ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME III *N° 3* *SEPTEMBRE 1930*

MÉMOIRES ORIGINAUX

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE L'ANTIGÈNE FORSSMAN. PRÉSENCE DE L'ANTIGÈNE HÉTÉROPHILE DANS LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE

par

D. COMBIESCO, S. STAMATESCO, N. NESTORESCO et C. ADAM

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest.)

La notion la plus importante dans l'étude des processus d'immunité est sans doute le caractère de spécificité des réactions antigène-anticorps. C'est à cette spécificité que nous devons une grande partie des applications pratiques des dates de l'immunité.

Lorsque Gruber et Durham (1896) ont décrit le phénomène d'agglutination et, peu après, R. Kraus celui de précipitation, les expérimentateurs ont eu la première preuve démonstrative du caractère de spécificité de la réaction antigène-anticorps. On a ajouté ensuite la réaction d'hémolyse (Bordet), la fixation du complément (Bordet-Gengou), le phénomène d'anaphylaxie (Richet), etc.

Au fur et à mesure que les acquisitions augmentaient, de nou-

velles notions venaient s'y ajouter. Ainsi une première observation : les sérums obtenus après une légère immunisation étaient ceux qui correspondaient le mieux au caractère de spécificité stricte. Les sérums obtenus après une immunisation prolongée, solide, avaient un titre d'anticorps très élevé. Mais à cette augmentation en quantité correspondait une diminution en qualité, Autrement dit, le sérum immun fort n'était plus strictement spécifique. Ainsi que le remarque H. Gideon Wells, quoique la spécificité était nette, elle avait plutôt un caractère quantitatif que qualitatif.

Gruber lui-même avait observé que le sérum antityphique fort est capable d'agglutiner aussi, quoique moins bien, le bacille paratyphique. De même, Ehrlich et Morgenroth ont montré que le sérum hémolytique antichèvre lyse aussi les globules rouges de mouton et de bœuf. Et Nuttal, Uhlenhuth ont vu qu'un sérum précipitant anti-homme précipite à un titre plus faible aussi en présence du sérum des singes supérieurs et même inférieurs.

Les recherches ultérieures ont conduit à de très intéressantes conclusions et notamment :

1° Qu'un antigène peut être commun non seulement aux espèces apparentées, mais aussi aux espèces qui sont assez éloignées sur l'échelle zoologique;

2° Que n'importe quelle cellule, quel microbe, quel tissu organique contient un nombre inconnu de plusieurs antigènes différents (Landsteiner, Welsh et Chapmann, Wells, etc.).

Le mérite d'avoir mis dans leur vraie lumière ces notions est dû à M. Nicolle et à ses collaborateurs, E. Debains, E. Césari, M^lle^ Raphael. Maurice Nicolle a créé le mot de « mosaïque d'antigènes ». pour exprimer plus clairement sa conception sur la structure des antigènes de n'importe quelle nature. D'après M. Nicolle, n'importe quelle cellule ou tissu animal contient plusieurs antigènes. D'habitude, un de ces antigènes est « dominant ». Des exemples personnels de M. Nicolle, nous voyons par exemple que les globules rouges de cheval contiennent un antigène « dominant » et d'autres antigènes « secondaires ». Ces antigènes « secondaires » sont communs aussi aux globules rouges de bœuf et de mouton, et à ces animaux, ils deviennent « dominants ». Toujours des exemples de M. Nicolle, les bacilles typhiques contiennent un antigène « dominant » et d'autres « secondaires », que nous rencontrons aussi chez les bacilles paratyphiques, où ils deviennent « dominants ».

De même pour le bacille Shiga et le bacille Flexner, avec la constatation que le bacille Shiga contient, outre l'antigène propre « dominant » une quantité tellement considérable de l'antigène « dominant » du bacille Flexner, que le sérum anti-Shiga est plus actif même auprès du bacille Flexner que le sérum anti-Flexner lui-même. De cette manière, M. Nicolle établit que « chaque cellule et chaque humeur sont spécifiques par coexistence constante de certains antigènes et dominance habituelle de l'un d'entre eux ».

Le plus typique exemple qu'un antigène peut être rencontré dans les cellules et les tissus les plus variés, provenant d'espèces animales et végétales différentes, est constitué par l'antigène nommé Forssman.

En 1911, Forssman a observé que certains tissus provenant de différentes espèces d'animaux, injectés au lapin, ont la propriété de stimuler la production d'hémolysines pour les érythrocytes de mouton. Ces antigènes sont nommés hétérogénétiques ou hétérophiles, ou antigènes Forssman. Quant aux anticorps ainsi produits, on les nomme hétérophiles ou anticorps Forssman, en gardant le terme d'homologue ou d'isophile pour les antigènes ou anticorps qui avaient une action seulement vis-à-vis des substances employées pour leur production ou vis-à-vis des substances qui s'étaient formées sous leur influence.

Les premières expériences de Forssman ont été faites avec des émulsions d'organes de cobaye, spécialement avec des émulsions de reins, de poumon, etc. Peu après, on a vu que les émulsions d'organes d'autres animaux (cheval, chien, chat, chameau, volaille, tortue, quelques poissons) ont les mêmes propriétés. D'autre part, les émulsions d'organes d'autres animaux, comme le lapin, le rat, le bœuf, le porc, le pigeon, l'oie, etc. ne contiennent pas l'antigène Forssman. Les animaux ont été partagés en deux groupes, selon qu'ils possèdent dans leurs organes l'antigène hétérophile. Ces deux groupes ont été nommés : 1° le groupe du cobaye, duquel font partie les animaux contenant dans leurs organes l'antigène Forssman; et 2° le groupe lapin, duquel font partie les animaux auxquels cet antigène manque.

La répartition de l'antigène hétérophile dans les différents organes ou tissus n'est pas égale. Ainsi, chez les cobayes, les reins sont plus riches en antigène hétérophile que le foie, et la cervelle et le sérum contiennent très peu de cet antigène. Chez le mouton, nous rencontrons l'antigène Forssman dans les globules rouges et le spermatozoïde, et chez les chèvres seulement dans les hématies.

Plus curieuse encore est la distribution de l'antigène parmi les différentes espèces animales : nous le trouvons chez la poule, mais il manque chez le pigeon; les souris l'ont, mais pas les rats, etc. Et, en ce qui concerne l'homme, nous avons deux groupes: les uns font partie du groupe cobaye, les autres du groupe lapin. Du groupe cobaye font partie les hommes des groupes sanguins II et IV d'après Jansky, c'est-à-dire les hommes dont les hématies contiennent l'agglutinogène *A*. (Friedberger et Schiff, Schiff et Adelberger.)

Les hommes des groupes I et III appartiennent au groupe lapin.

L'étude des bactéries à ce point de vue a donné des résultats différents, non seulement d'une espèce microbienne à une autre, ou d'une race à l'autre, mais aussi dans l'intérieur de la même race. Ainsi, quelques bacilles typhiques contiennent l'antigène Forssman (Doerr et Hallauer), d'autres pas (Tsuneoka); quelques bacilles paratyphiques *B* et le bacille Gärtner font partie du groupe cobaye contenant l'antigène hétérophile (Rothacker), tandis que d'autres paratyphiques *B* ne le contiennent pas (Tsuneoka), etc.

L'étude des antigènes et anticorps hétérophiles présente une importance, tant du point de vue théorique que du point de vue pratique.

Dès 1909, Friedberger et Hartoch avaient montré que le sérum hémolytique lapin antimouton est toxique pour le cobaye. La découverte de l'antigène hétérophile par Forssman rend possible l'explication de cette toxicité. Les sérums à anticorps hétérophiles, comme le sérum hémolytique antimouton, sont toxiques pour les animaux qui contiennent l'antigène Forssman, comme le cobaye.

Par l'intervention des réactions entre les anticorps et les antigènes hétérophiles, il est peut-être possible d'expliquer dans une mesure quelconque aussi d'autres procès d'intoxication sérique, comme par exemple la maladie du sérum chez l'homme.

Dans le sérum humain se trouvent des anticorps Forssman, prouvés par les hémolysines normales pour les globules rouges de mouton. Dans différentes maladies, la quantité d'anticorps hétérophiles du sérum humain peut croître (D. Combiesco, S. Stamatesco, N. Nestoresco, C. Adam), et alors il est possible que nous ayons une réaction Wassermann positive là où il n'y a pas de syphilis, si l'antigène que nous avons employé a été préparé des muscles du cœur du cobaye, cheval ou autres animaux, dont les organes possèdent l'antigène Forssman.

Enfin les hygiénistes cherchent à tirer des avantages de la découverte de l'antigène Forssman, lorsqu'il s'agit de voir si les conserves alimentaires : saucisses, salami, etc., contiennent de la viande de cheval, de chien, etc. Les antigènes Forssman, étant résistants à la cuisson, peuvent être mis en évidence dans les conserves de viandes par la réaction de fixation du complément.

RECHERCHES PERSONNELLES

La présente étude contient les expériences entreprises pour montrer si la bactéridie charbonneuse contient de l'antigène hétérophile. Les points suivants ont été examinés :

1° Si la bactéridie charbonneuse est capable de fixer *in vitro* l'anticorps hétérophile (anticorps Forssman) ;

2° Si une macération de bactéridie charbonneuse est capable de fixer le complément en présence de l'anticorps hétérophile;

3° Si l'antigène résiduel charbonneux (la substance spécifique de nature hydrocarbonée extraite de la bactéridie charbonneuse) est capable de fixer le complément en présence de l'anticorps hétérophile;

4° Si la bactéridie charbonneuse inoculée au lapin est capable de donner naissance à la formation d'anticorps hétérophiles ;

5° Les réactions du sérum immun anticharbonneux vis-à-vis de l'antigène Forssman connu.

6° La toxicité pour le cobaye du sérum immun anticharbonneux préparé sur le lapin.

I

LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE FIXE « IN VITRO » LES ANTICORPS FORSSMAN

Les expériences d'adsorption des anticorps hétérophiles ont été faites en nous servant comme antigène d'une culture de bactéridie charbonneuse de vingt-quatre heures sur gélose préparée avec du bouillon de veau.

Les anticorps hétérophiles étaient représentés par le sérum des lapins qui ont reçu plusieurs injections d'émulsion d'organes de cobayes. Nous avons inoculé les lapins surtout avec les émulsions du poumon de cobaye. Des lapins de 1500 à 2000 grammes ont

reçu dans le péritoine six inoculations d'un broyage du poumon de cobaye dans du sérum physiologique. L'émulsion de poumon était préparée ainsi : le poumon était trituré dans un mortier en ajoutant une quantité d'eau physiologique à 9 ‰ égale au poids de l'organe trituré. L'émulsion ainsi obtenue était filtrée sur de la gaze et ensuite inoculée aux lapins. Cette émulsion de poumon de cobaye est très toxique pour le lapin, de sorte que les doses inoculées doivent être relativement petites. Nous avons inoculé généralement des quantités variant entre 0,2 et 0,5 centimètre cube de l'émulsion d'organe préparée ainsi qu'il a été dit plus haut. L'intervalle laissé entre deux injections a été de cinq ou six jours, et la saignée des animaux a été faite sept jours après la dernière injection.

Des expériences-témoins ont été faites sur des cobayes de 400 à 500 grammes. Comme les lapins, les cobayes ont reçu cinq ou six injections d'émulsion de poumon de lapin, toujours dans le péritoine et en respectant le même intervalle entre les injections. Les doses d'émulsions inoculées étaient cependant beaucoup plus petites (0,05 centimètre cube), les cobayes supportant encore plus difficilement que les lapins les injections intrapéritonéales d'émulsion de poumon de lapin. Sept jours après la dernière inoculation, les cobayes ont été saignés à blanc, comme les lapins. Nous avons aussi employé dans nos expériences pour les examens de contrôle des sérums hémolytiques habituels, sérums lapin-antimouton, obtenus sur le lapin par des injections de globules rouges de mouton lavés trois fois. Avant de voir si la bactéridie charbonneuse fixe *in vitro* l'anticorps Forssman, nous avons cherché quel est le titre hémolytique des sérums obtenus par nous, c'est-à-dire :

1° du sérum de lapin inoculé avec l'émulsion de poumon de cobaye;

2° du sérum de cobaye inoculé avec l'émulsion de poumon de lapin;

3° du sérum de lapin inoculé avec des globules rouges de mouton.

Le pouvoir hémolytique de ces sérums a été essayé sur des globules rouges de mouton. Les sérums ont été chauffés pendant une demi-heure à 56°. Nous avons fait des dilutions différentes de ces sérums de 1:10 jusqu'à 1:6000. Comme alexine, nous avons employé le sérum frais de cobaye dilué 1:10 au moment de l'emploi. Les globules rouges de mouton étaient lavés trois fois avec du sérum physiologique. Dans la réaction, nous avons

employé 0,25 centimètre cube d'une suspension de globules rouges 5 % dans du sérum physiologique.

En procédant ainsi, nous avons constaté :

1° Le sérum des cobayes inoculés avec l'émulsion de poumon de lapin ne contient pas d'hémolysines pour les globules rouges de mouton.

2° Le sérum des lapins inoculés avec l'émulsion de poumon de cobaye a un titre hémolytique variant d'un animal à l'autre, parfois assez élevé. Ainsi le sérum d'un lapin (n° 1) a un titre de 1:200, c'est-à-dire 0,25 centimètre cube de la dilution de 1:200, lyse 0,25 centimètre cube globules rouges de mouton de la suspension 5 % en présence de 0,25 centimètre cube d'alexine diluée 1:10. Le sérum d'un autre lapin (n° 2) a un titre de 1.2500, c'est-à-dire 0,25 centimètre cube de ce sérum dans la dilution de 1:2500, lyse 0,25 centimètre cube, globules rouges de mouton de la suspension 5 % en présence de 0,25 centimètre cube d'alexine diluée 1 : 10.

3° Le sérum hémolytique lapin antimouton dont nous nous sommes servis pour nos expériences, titré dans les mêmes conditions, avait un titre de 1 : 3000.

Nous avons donc obtenu des sérums à action lytique pour les globules rouges de mouton seulement chez les lapins inoculés avec l'émulsion de poumon de cobaye ou chez ceux inoculés avec des globules rouges de mouton. Et, ainsi qu'on devait s'y attendre, nous n'avons rien obtenu avec les sérums des cobayes inoculés avec l'émulsion de poumon de lapin.

Pour voir si la bactéridie charbonneuse fixe l'anticorps Forssman, nous ne pouvons donc nous adresser qu'aux sérums de lapins inoculés avec l'émulsion de poumon de cobaye ; ce sérum seul contenant l'anticorps hétérophile. Mais, pour voir si cette fixation est spécifique, nous avons soumis au même traitement un sérum hémolytique habituel, sérum lapin-antimouton (sérum H).

Dans cette expérience, nous nous sommes servis du sérum du lapin n° 2, qui avait un titre hémolytique de 1 : 2500, et du sérum du lapin inoculé avec les globules rouges de mouton, qui avait un titre de 1 : 3000.

Pour la réaction d'adsorption, nous avons fait différentes dilutions avec le sérum n° 2 : 1 : 100, 1 : 150, 1 200, 1 : 500.

Avec le sérum H, nous avons fait les dilutions : 1 : 200 ; 1 : 500 ; 1 : 1000 ; 1 : 1500.

A 1 centimètre cube de chaque dilution, nous avons ajouté une quantité constante du dépôt de centrifugation de la culture microbienne (0,1-0,2 centimètre cube). Les mélanges, bien agités, étaient gardés une heure à 37°, puis centrifugés. Les liquides surnageants sont éprouvés pour leur pouvoir hémolytique. De chaque liquide qui correspondait à une dilution donnée on mettait, dans une série de trois tubes à hémolyse, 1, 0,5 et 0,25 centimètres cubes. On ajoutait du sérum physiologique à 9 % dans les deux derniers tubes pour avoir 1 centimètre cube de liquide dans chaque tube, puis on ajoutait dans chaque tube, 0,25 centimètre d'alexine diluée à un dixième et 0,25 centimètre cube de globules rouges de mouton lavés et dilués à 5 %. Les mélanges étaient laissés une heure à 37°, puis à la température du laboratoire pendant la nuit. Les résultats obtenus sont les suivants:

SÉRUM N° 2 *(lapin inoculé avec du poumon de cobaye).*

Dilution 1 : 100	Hémolyse [1]	Dilution 1 : 200	Hémolyse
1 cmc.	++++	1 cmc.	----
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc.	----
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	----
Dilution 1 : 150	**Hémolyse**	**Dilution 1 : 500**	**Hémolyse**
1 cmc.	++++	1 cmc.	----
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc.	----
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	----

SÉRUM H. *(lapin-antimouton).*

Dilution 1 : 200	Hémolyse	Dilution 1 : 1.000	Hémolyse
1 cmc.	++++	1 cmc	++++
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc.	++++
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	++++
Dilution 1 : 500	**Hémolyse**	**Dilution 1 : 1.500**	**Hémolyse**
1 cmc.	++++	1 cmc.	++++
0,5 cmc.	++++	0.5 cmc	++++
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	++++

Il résulte de ce tableau que la bactéridie charbonneuse fixe *in vitro* l'anticorps Forssman ; que cette fixation est spécifique. Le sérum du lapin n° 2, traité d'après la méthode exposée ci-dessus avec la bactéridie charbonneuse, perd une grande partie de son pouvoir hémolytique (son titre de 1 : 2500 descend à 1 : 150) pendant que le sérum *H*, soumis au même traitement, ne semble pas être influencé.

(1) + signifie *hémolyse* ; — signifie *manque d'hémolyse*.

*
**

Nous avons fait la même expérience en variant le dispositif de la manière suivante. Les sérums, dans les dilutions citées plus haut, ont été centrifugés après avoir été en contact avec les bactéridies charbonneuses à 37°, puis distribuées dans des tubes à hémolyse. Pour chaque dilution, nous avons trois tubes :

1 tube avec 1 cmc. liquide,
1 tube avec 0,5 cmc. liquide — 0,5 cmc. sérum physiologique à 9 °/₀₀.
1 tube avec 0,25 cmc. liquide — 0,75 cmc. sérum physiologique à 9 °/₀₀.

Dans chaque tube, nous ajoutons 0,25 centimètre cube de l'émulsion de globules rouges de mouton 5 %. Les tubes sont laissés trente minutes à 37°; après, nous centrifugeons tous les tubes. Les liquides de centrifugation sont décantés et remplacés par 1 centimètre cube de sérum physiologique dans chaque tube. On agite bien les tubes, afin de resuspendre les globules rouges de mouton, puis on ajoute dans chaque tube 0,25 centimètre cube d'alexine 1 : 10 et, après avoir bien mélangé, on laisse les tubes pendant une heure à 37°. Les résultats sont notés le lendemain, les tubes étant gardés à la température du laboratoire.

Voici les résultats :

SÉRUM N° 2 *(lapin inoculé avec du poumon de cobaye).*

Dilution 1 : 100	Hémolyse	Dilution 1 : 200	Hémolyse
1 cmc.	++++	1 cmc.	————
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc.	————
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	————
Dilution 1 : 150	**Hémolyse**	**Dilution 1 : 500**	**Hémolyse**
1 cmc.	++——	1 cmc.	————
0,5 cmc.	+———	0,5 cmc.	————
0,25 cmc.	————	0,25 cmc.	————

SÉRUM H. *(lapin-antimouton).*

Dilution 1 : 200	Hémolyse	Dilution 1 : 1.000	Hémolyse
1 cmc.	++++	1 cmc.	++++
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc.	++++
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	++++
Dilution 1 : 500	**Hémolyse**	**Dilution 1 : 1.500**	**Hémolyse**
1 cmc.	++++	1 cmc.	++++
0,5 cmc.	++++	0,5 cmc	++++
0,25 cmc.	++++	0,25 cmc.	++++

Il résulte de cette deuxième expérience que la bactéridie charbonneuse fixe *in vitro* l'anticorps Forssman.

II

FIXATION DU COMPLÉMENT PAR L'ANTICORPS FORSSMAN EN PRÉSENCE D'UNE MACÉRATION DE BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE

Dans la réaction de fixation du complément, nous nous sommes servis comme antigène d'une macération de bactéridie charbonneuse préparée comme il suit :

Des ballons contenant 500 centimètres cubes de bouillon peptoné étaient ensemencés avec la culture de vingt-quatre heures d'un tube de gélose oblique; vingt-quatre heures après, dans le même bouillon, on ajoutait de nouveau une culture de vingt-quatre heures d'un tube de gélose oblique, et l'on procédait ainsi pendant cinq jours. Le ballon était gardé encore pendant cinq jours à 37°, ensuite on filtrait sur du papier-filtre le contenu du ballon. Le liquide ainsi obtenu est très clair et sert comme antigène après un titrage préalable.

Les anticorps Forssman étaient contenus dans :

1° le sérum des lapins inoculés avec l'émulsion de poumon de cobaye ;

2° le sérum des lapins qui ont reçu une série d'injections de globules rouges de mouton qui ont été traités avec de l'acétone et de l'alcool ;

3° le sérum des lapins qui ont été inoculés avec le résidu obtenu après l'évaporation de l'alcool avec lequel ont été en contact les globules rouges de mouton.

Pour obtenir le sérum du point 2°, nous avons procédé ainsi : les globules rouges de mouton fraîchement récoltés et défibrinés par l'agitation sur des perles de verre étaient lavés trois fois avec le sérum physiologique. On éloignait le liquide surnageant le dépôt de globules rouges obtenu après la troisième centrifugation. A ce dépôt de globules rouges, on ajoutait de l'acétone, on agitait et le mélange était laissé pendant quatre jours à 37°, l'acétone étant changée chaque jour en ayant soin d'agiter de temps en temps le ballon contenant le mélange. Le quatrième jour, on décantait l'acétone et on la remplaçait par de l'alcool. On gardait cette fois-ci le ballon vingt-quatre à quarante-huit heures à la température du laboratoire, en agitant de temps en temps, puis on filtrait sur du papier-filtre. Les globules rouges retenus par le papier étaient séchés à 37° et ensuite resuspendus dans du sérum

physiologique stérile en quantité approximativement égale au sérum de mouton décanté après la centrifugation.

Avec la suspension de globules rouges ainsi obtenue, on procède à l'inoculation des lapins. Les lapins reçoivent cinq injections intrapéritonéales, chaque injection étant de 5 centimètres cubes de suspension globulaire. L'intervalle entre les injections est de trois à cinq jours. Huit jours après la dernière inoculation, les lapins ont été saignés. Le sérum obtenu, chauffé une demi-heure à 56°, sert dans la réaction de fixation du complément.

L'alcool obtenu après la filtration par le papier-filtre du mélange de globules rouges et d'alcool décrit plus haut était soumis à l'évaporation. Le résidu obtenu était repris dans du sérum physiologique en quantité approximativement égale à celle du sang dont nous avons obtenu ce résidu et a servi à l'inoculation des lapins. Les lapins ont été inoculés dans le péritoine, chaque lapin recevant quatre injections de cinq centimètres cubes chacune, de l'émulsion obtenue, à intervalle de quatre ou cinq jours. La saignée a été faite huit jours après la dernière injection.

Le sérum obtenu, chauffé une demi-heure à 56°, sert dans la réaction de fixation du complément et représente le sérum des lapins du point n° 3.

Les globules rouges qui ont servi à l'inoculation des lapins n'ont pas été complètement épuisés des substances solubles en alcool, de même que le résidu obtenu à l'évaporation de l'alcool contenait encore quelques globules rouges.

Les réactions de fixation du complément ont été faites d'après le tableau suivant :

Antigène	Alexine 1/10	Sérum à examiner	Sérum physiologique		Globules rouges de mouton 5 °/₀	Sérum hémolytique
0,25 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,15 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.
0,15 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,25 cc.		0,25 cc.	0.25 cc.
0,1 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,3 cc.	une	0,25 cc.	0,25 cc.
0,05 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,35 cc.	heure	0,25 cc.	0,25 cc.
0,5 cc.	0,25 cc.	—	—	à 37°	0,25 cc.	0,25 cc.
0,3 cc.	0,25 cc.	—	0,2 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.
—	0,25 cc.	0,2 cc.	0,3 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.

Les résultats obtenus avec nos sérums sont exposés dans les tableaux suivants :

Pour le sérum n° 1, provenant du lapin inoculé avec du poumon de cobaye :

Antigène macération charbon	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + +
0.15 cc.....	+ + + −
0 1 cc.....	+ + − −
0,05 cc	− − − −

Pour le sérum n° 2, provenant du lapin inoculé avec du poumon de cobaye.

Antigène macération charbon	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + +
0.15 cc.....	+ + + −
0.1 cc.....	+ + − −
0,05 cc.....	+ + − −

Pour le sérum n° 5, récolté chez un lapin inoculé avec des globules rouges de mouton, après le traitement à l'acétone et à l'alcool :

Antigène macération charbon	Fixation du complément
0.25 cc.....	+ + + +
0.15 cc.....	+ + + +
0,1 cc.....	+ + + +
0,05 cc.....	+ − − −

Pour le sérum n° 9, obtenu chez un lapin inoculé avec le résidu de l'évaporation de l'alcool avec lequel avaient été traités les globules rouges de mouton :

Antigène macération charbon	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + +
0,15 cc.....	+ + + +
0,1 cc.....	+ + + +
0,05 cc	+ + + −

Comme sérums témoins, nous avons eu :

1° le sérum n° 3 d'un lapin inoculé avec du poumon de lapin,

2° le sérum n° 4 d'un cobaye inoculé avec du poumon de lapin,

3° le sérum n° 7 d'un lapin inoculé avec de la macération de bactéridie charbonneuse,

4° le sérum n° 13 du lapin inoculé avec de l'antigène résiduel charbonneux,

5° le sérum n° 12 d'un lapin inoculé avec du vaccin II (Pasteur).

En procédant dans les mêmes conditions que dans les cas des sérums n°s 1, 2, 5 et 9, nous avons obtenu :

a) Absence complète de fixation du complément avec les sérums :

N° 3 (sérum de lapin inoculé avec du poumon de lapin),

N° 4 (sérum de cobaye inoculé avec du poumon de lapin),

N° 13 (sérum de lapin inoculé avec l'antigène résiduel charbonneux) ;

b) Fixation du complément, réaction intensément positive avec les sérums :

N° 7 (sérum de lapin inoculé avec de la macération de bactéridie charbonneuse),

N° 12 (sérum de lapin inoculé avec du vaccin II (Pasteur).

Des expériences exposées plus haut, il résulte que les sérums Forssman, c'est-à-dire les sérums contenant des anticorps hétérophiles, fixent le complément en présence d'une macération de bactéridie charbonneuse.

III

L'ANTIGÈNE RÉSIDUEL CHARBONNEUX EST CAPABLE DE FIXER LE COMPLÉMENT EN PRÉSENCE DE L'ANTICORPS HÉTÉROPHILE

Dans ces expériences, nous nous sommes servis comme anticorps Forssman des sérums employés dans le chapitre précédent (II), c'est-à-dire :

1° des sérums n^{os} 1 et 2 des lapins inoculés avec de l'émulsion de poumon de cobaye,

2° du sérum n° 5 d'un lapin inoculé avec des globules rouges de mouton préparé ainsi qu'il a été montré ci-dessus,

3° du sérum n° 9 récolté d'un lapin injecté avec le résidu obtenu après l'évaporation de l'alcool avec lequel avaient été traités les globules rouges de mouton qui ont servi à l'inoculation du lapin n° 5.

Comme témoins, nous avons employé les mêmes sérums qui nous ont servi dans la réaction de fixation du complément avec la macération charbonneuse, c'est-à-dire :

1° le sérum n° 3, d' un lapin inoculé avec du poumon de lapin,

2° le sérum n° 4, d'un cobaye inoculé avec du poumon de lapin,

3° le sérum n° 7, d'un lapin inoculé avec la macération de bactéridie charbonneuse,

4° le sérum n° 12, sérum d'un lapin inoculé avec le vaccin Pasteur II,

5° le sérum n° 13, récolté chez un lapin inoculé avec de l'antigène résiduel charbonneux.

Comme antigène dans la réaction de fixation du complément

dans le cas présent, nous avons employé l'antigène résiduel charbonneux.

Nous avons décrit dans un autre mémoire la méthode de préparation de cet antigène résiduel et les propriétés chimiques et sérologiques que cet antigène présente.

Les réactions de fixation du complément ont été faites d'après la technique exposée au chapitre II : fixation du complément par l'anticorps Forssman en présence de la macération de bactéridie charbonneuse.

Les résultats obtenus avec nos sérums sont donnés dans les tableaux suivants :

Pour le sérum n° 1, provenant d'un lapin inoculé avec du poumon de cobaye :

Antigène résiduel charbon.	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + −
0,15 cc.....	+ ± − −
0,1 cc.....	− − − −
0,05 cc.....	− − − −

De même, pour le sérum n° 2, provenant d'un lapin inoculé avec du poumon de cobaye.

Antigène résiduel charbon.	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + −
0,15 cc.....	+ ± − −
0,1 cc.....	+ − − −
0,05 cc	− − − −

Pour le sérum n° 5, provenant d'un lapin inoculé avec des globules rouges de mouton, après le traitement à l'acétone et à l'alcool :

Antigène résiduel charbon.	Fixation du complément
0,25 cc.....	− − − −
0,15 cc.....	− − − −
0,1 cc..	− − − −
0,05 cc.....	− − − −

Pour le sérum n° 9, récolté chez un lapin inoculé avec le résidu obtenu à l'évaporation de l'alcool avec lequel avaient été traités les globules rouges de mouton :

Antigène résiduel charbon.	Fixation du complément
0,25 cc.....	+ + + +
0,15 cc.....	+ + + +
0,1 cc.....	+ + + +
0 05 cc.....	+ + + +

Les réactions faites avec les sérums témoins ont donné :

1° Absence complète de fixation du complément avec les sérums :

— n° 3 (sérum de lapin inoculé avec du poumon de lapin),

— n° 4 (sérum de cobaye inoculé avec du poumon de cobaye),

— n° 13 (sérum de lapin inoculé avec de l'antigène résiduel) ;

2° Fixation du complément, la réaction étant intensément positive, avec les sérums :

— n° 7 (sérum de lapin inoculé avec de la macération charbonneuse).

— n° 12 (sérum de lapin inoculé avec du vaccin II (Pasteur).

Des expériences exposées plus haut, il résulte que les sérums Forssman, c'est-à-dire les sérums contenant les anticorps hétérophiles, fixent le complément en présence de l'antigène résiduel charbonneux. Cette fixation est d'un degré moins élevé que la fixation du complément obtenue avec l'antigène-macération de bactéridie charbonneuse.

Une fixation intense du complément avec l'antigène résiduel a été obtenue avec le sérum du lapin inoculé avec le résidu obtenu à l'évaporation de l'alcool avec lequel nous avions traité les globules rouges de mouton. Le sérum des lapins inoculés avec de l'antigène résiduel ne fixe pas le complément en présence de cet antigène.

IV

PRODUCTION DES ANTICORPS HÉTÉROPHILES PAR L'INJECTION DE LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE CHEZ LE LAPIN ET CHEZ LE BŒUF

L'antigène charbonneux dont nous nous sommes servis dans ces expériences pour l'injection des lapins était représenté :

1° soit par une macération de bactéridies charbonneuses (culture abondante et vieille de dix jours) ;

2° soit par l'antigène résiduel charbonneux; l'antigène résiduel charbonneux est constitué par la substance soluble spécifique hydrocarbonée extraite de la bactéridie charbonneuse ;

3° ou enfin par une émulsion dans de l'eau physiologique d'une culture sur gélose de vaccin anticharbonneux (vaccin II [Pasteur]).

Les lapins ont été inoculés dans les veines. Chaque lapin rece-

vait 16 centimètres cubes de l'antigène respectif répartis en sept injections à trois ou quatre jours d'intervalle. Sept jours après la dernière inoculation, les animaux ont été saignés. Le sérum obtenu, chauffé trente minutes à 56°, a été éprouvé pour le pouvoir hémolytique vis-à-vis des hématies des moutons. Les résultats globaux de nos expériences sont les suivants :

1° Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence la présence des hémolysines pour les globules rouges de mouton dans le sérum des lapins inoculés avec l'antigène résiduel charbonneux ;

2° Dans le sérum des lapins inoculés avec la macération de bactéridie charbonneuse ou avec l'émulsion microbienne de vaccin II (Pasteur), nous avons constaté l'apparition des lysines pour les globules rouges de mouton. Le titre hémolytique de ces sérums est assez élevé : 0,002 centimètre cube lysent 1 centimètre cube d'hématies de mouton.

Parmi les lapins inoculés avec la macération de bactéridie charbonneuse, et parmi ceux inoculés avec du vaccin II (Pasteur), on en rencontre qui ne réactionnent pas à l'injection d'antigène. La différence de réaction individuelle intervient dans de pareilles circonstances.

Nous devons ajouter que les lapins employés dans ces expériences ne présentaient pas d'hémolysines pour les hématies de mouton dans leur sérum avant l'inoculation, ou que le titre hémolytique de leur sérum ne dépassait pas le chiffre d'un dixième.

Nous avons cherché aussi à voir si le sérum de bœuf hyperimmunisé contre la bactéridie charbonneuse contenait des hémolysines pour les hématies des moutons. L'examen a été fait sur vingt sérums provenant de vingt bœufs immunisés pour la préparation du sérum anticharbonneux. Comme témoin, nous avons eu le sérum de vingt bœufs normaux et de huit chevaux fournisseurs de sérum anticharbonneux. Or, tandis que le titre hémolytique du sérum normal de bœuf ou de cheval immunisé contre la bactéridie charbonneuse ne dépassait pas un dixième, le sérum des bœufs hypervaccinés arrivait quelquefois à hémolyser les hématies de mouton dans une dilution assez importante (1 : 150-1 : 500 dans quatre cas).

Donc, la bactéridie charbonneuse inoculée aux lapins et aux bœufs est capable de donner naissance à la formation d'anticorps Forssman. L'inoculation d'antigène résiduel charbonneux chez les mêmes animaux n'est pas suivie par l'apparition de ces anticorps hétérophiles.

V

RÉACTIONS SPÉCIFIQUES DU SÉRUM IMMUN ANTICHARBONNEUX AVEC LES ANTIGÈNES FORSSMAN

Dans cette partie de notre étude, nous avons tâché de voir si l'anticorps charbonneux fixait spécifiquement le complément en présence de l'antigène Forssman. L'anticorps hétérophile était représenté par le sérum anticharbonneux préparé sur le lapin, et l'antigène Forssman par l'extrait alcoolique de reins de cobayes et par l'extrait alcoolique de sérum normal de cheval.

A. — L'extrait alcoolique de reins de cobayes a été préparé de la manière suivante : les reins de cobayes, récoltés immédiatement après avoir sacrifié l'animal, sont découpés en très petits morceaux; les morceaux sont lavés deux ou trois fois avec du sérum physiologique à 9 ‰. Après avoir été lavés, ils sont broyés dans un mortier stérile, jusqu'à ce qu'on obtienne une pulpe plus ou moins homogène. A la pulpe ainsi obtenue, on ajoute de l'alcool de 96° en proportions d'une partie pulpe pour six à huit parties alcool. On mélange bien la pulpe avec l'alcool et on laisse le mélange huit jours à 37°, en ayant soin d'agiter de temps à autre le ballon contenant le mélange. Huit jours plus tard, on centrifuge le mélange, on décante l'alcool obtenu par centrifugation. L'alcool ainsi obtenu est soumis à l'évaporation jusqu'à ce que le volume soit réduit à un huitième ou à un dixième du volume initial. L'extrait ainsi obtenu par l'évaporation est dilué peu à peu dans du sérum physiologique à 9 ‰, jusqu'à ce qu'on ait remplacé tout l'alcool évaporé. On obtient ainsi une émulsion opalescente qu'on emploie dans la réaction comme antigène Forssman.

Nous avons soumis au même traitement les reins de lapins, récoltés immédiatement après la sacrification des animaux. L'émulsion obtenue des reins de lapins nous a servi dans les réactions témoins, les organes du lapin ne contenant pas l'antigène Forssman.

La réaction de fixation a été faite d'après le tableau suivant :

Antigène	Alexine 1/10	Sérum à examiner	Sérum physiologique à 9 °/₀₀		Globules rouges de mouton 5 °/₀	Sérum hémolytique lapin anti-mouton
0,20 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,15 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.
0,15 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,25 cc.	une	0,25 cc.	0,25 cc.
0,1 cc.	0,25 cc.	0.1 cc.	0,3 cc.	heure	0,25 cc.	0,25 cc.
0,05 cc.	0,25 cc.	0,1 cc.	0,35 cc.	à 37°	0,25 cc.	0.25 cc.
0,5 cc.	0,25 cc.	—	—		0,25 cc.	0,25 cc.
0,3 cc.	0,25 cc.	—	0,2 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.
—	0,25 cc.	0,2 cc.	0,3 cc.		0,25 cc.	0,25 cc.

Les résultats obtenus ont été :

Avec le sérum n° 7 (lapin inoculé macération charbon) .....

Antig. cobaye (1)	Antig. lapin
0,20 ++++	----
0,15 ++++	----
0,1 ++++	----
0,05 ++++	----

Avec le sérum n° 8 (lapin inoculé macération charbon) .....

Antig. cobaye	Antig. lapin
0,20 +++—	----
0,15 ++——	----
0,1 ————	----
0,05 ————	----

Avec le sérum n° 12 (lapin inoculé avec du vaccin II [Pasteur]).....

Antig. cobaye	Antig. lapin
0,20 ++++	----
0,15 ++++	----
0,1 ++++	----
0,05 ++++	----

Les résultats obtenus avec les sérums témoins ont été les suivants :

Avec le sérum n° 1 (lapin inoculé avec du poumon de cobaye).....

Antig. cobaye	Antig. lapin
0,20 ++++	----
0,15 ++++	----
0,1 ++++	----
0,05 ++++	----

Avec le sérum n° 3 (lapin inoculé avec du poumon de lapin).....

Antig. cobaye	Antig. lapin
0,20 ————	----
0,15 ————	----
0,1 ————	----
0,05 ————	----

Avec le sérum n° 4 (cobaye inoculé avec du poumon de lapin).....

Antig. cobaye	Antig. lapin
0,20 ————	----
0,15 ————	----
0,1 ————	----
0,05 ————	----

(1) ++++ = fixation de l'alexine; ———— = absence de fixation de l'alexine.

		Antig. cobaye	Antig. lapin
Avec le sérum n° 5 (lapin inoculé globules rouges de mouton, traités par l'alcool et l'acétone)	0,20	— — — —	— — —
	0,15	— — — —	— — — —
	0,1	— — — —	— — — —
	0,05	— - — —	— — — —

		Antig. cobaye	Antig. lapin
Avec le sérum n° 9 (lapin inoculé résidu obtenu à l'évaporation de l'alcool avec lequel ont été traités les globules rouges de mouton)	0.20	+ + + +	— — — —
	0.15	+ + + +	— — — —
	0,1	+ + + +	— — — —
	0,05	+ + + +	— — — —

Parmi les sérums témoins, nous avons eu aussi neuf sérums de cheval hyperimmunisé contre la bactéridie charbonneuse. On sait que, parmi les animaux du groupe cobaye, on compte aussi le cheval, celui-ci ayant dans ses organes l'antigène Forssman. Les chevaux inoculés avec l'antigène Forssman ne donnent donc pas naissance à des anticorps Forssman. En examinant le sérum de neuf chevaux hyperimmunisés pour la préparation du sérum anticharbonneux, les réactions de fixation faites dans les conditions ci-dessus en présence de l'extrait alcoolique de reins de cobaye et de reins de lapin ont été complètement négatives. Donc,

		Antig. cobaye	Antig. lapin
Avec neuf sérums anticharbonneux préparés sur le cheval	0,20	— — — —	— — — —
	0.15	— — — —	— — — —
	0,1	— — — —	— — — —
	0,05	— — — —	— — — —

B. — L'extrait alcoolique de sérum de cheval qui représente le second antigène Forssman employé dans nos expériences est préparé comme suit :

Le sérum de cheval normal est chauffé à 100° jusqu'à ce qu'il soit coagulé; le caillot est lavé plusieurs fois avec de l'eau bouillie. Après avoir été lavé, il est coupé en de petits morceaux et séché à 37°. Après le séchage, le sérum est pulvérisé dans un mortier stérilisé. On ajoute à la poudre de sérum ainsi obtenue six à huit volumes de l'alcool à 96°.

On laisse le mélange huit jours au thermostat, puis on centrifuge. L'alcool clair qui est ensuite obtenu à la décantation est soumis à l'évaporation, jusqu'à ce qu'il soit réduit approximativement à un huitième ou un dixième du volume initial. A ce reste obtenu après l'évaporation, on ajoute du sérum physiologique à 9 ‰, jusqu'à ce que tout l'alcool évaporé soit remplacé.

L'émulsion ainsi obtenue sert d'antigène dans la réaction de fixation.

En suivant la même technique, nous avons préparé un extrait de sérum de bœuf, qui a été employé dans nos réactions. Le bœuf, ainsi que nous l'avons dit plus haut, fait partie du groupe lapin, c'est-à-dire des animaux ne contenant pas de l'antigène Forssman dans leur organisme.

Les résultats obtenus ont été :

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 7 (lapin inoculé macération charbon)	0,20 ++++	----
	0,15 ++++	----
	0,1 ++++	----
	0,05 +++±	---

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 8 (lapin inoculé macération charbon)	0,20 ++---	----
	0.15 +---	----
	0.1 ----	----
	0.05 ----	----

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 12 (lapin inoculé avec le vaccin II [Pasteur])	0,20 ++++	----
	0,15 ++++	----
	0.1 ++++	----
	0.05 + ---	---

Les résultats obtenus avec les sérums témoins ont été :

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 1 (lapin inoculé poumon cobaye)	0.20 ++++	----
	0,15 ++++	----
	0,1 ++++	----
	0.05 ++++	----

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 2 (lapin inoculé poumon cobaye	0.20 ++++	----
	0.15 ++++	---
	0.1 ++---	---
	0,05 ++-	----

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 4 (cobaye inoculé avec du poumon de lapin)	0,20 ----	---
	0,15 ----	----
	0,1 ----	----
	0,05 ---	----

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 5 (lapin inoculé avec globules rouges de mouton traités par l'alcool et l'acétone.....	0 20 ++++	----
	0,15 ++++	----
	0,1 ++++	----
	0,05 ++--	----

Avec le sérum n° 6 obtenu chez un autre lapin inoculé avec des globules rouges de mouton préparés d'après la technique déjà décrite, nous avons eu des résultats négatifs, c'est-à-dire l'absence de fixation de l'alexine. Ceci nous montre encore une fois la différence dans les réactions individuelles.

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec le sérum n° 9 (lapin inoculé, résidu obtenu à l'évaporation de l'alcool avec lequel ont été traités les globules rouges de mouton.).....	0,20 ++++	----
	0,15 ++++	----
	0,1 ++++	----
	0,05 ++++	----

	Antigène sérum cheval	Antigène sérum bœuf
Avec les sérums n^{os} 10 et 11 (lapins inoculés, antigène résiduel, vaccin II [Pasteur]).....	0,20 ----	----
	0,15 ----	----
	0 1 ----	----
	0.05 ---	----

Avec les sérums n° 13 et n° 14 obtenus chez les lapins inoculés avec de l'antigène résiduel extrait d'une bactéridie charbonneuse virulente, nous avons obtenu les mêmes résultats négatifs que dans le cas des lapins inoculés avec de l'antigène résiduel du vaccin II (Pasteur).

Ces expériences nous montrent que l'extrait alcoolique des tissus contenant l'antigène Forssman (reins de cobaye-sérum de cheval) fixe le complément en présence du sérum anticharbonneux préparé sur le lapin. Les mêmes extraits ne fixent pas le complément en présence du sérum anticharbonneux préparé sur le cheval, le cheval faisant partie du groupe du cobaye.

VI

TOXICITÉ POUR LE COBAYE DU SÉRUM ANTICHARBONNEUX PRÉPARÉ SUR LE LAPIN

On sait que les sérums contenant des hétéro-anticorps sont toxiques pour le cobaye. Ces sérums inoculés dans les veines tuent les cobayes avec les symptômes de l'anaphylaxie; inoculés dans

la carotide en direction centripétale, les cobayes présentent le complexus carotal décrit par Forssman. Nous avons essayé à ce point de vue le sérum des lapins vaccinés contre le charbon bactéridien. Les cobayes inoculés dans les veines avec 0,5 à 2 centimètres cubes de sérum succombent rapidement en deux à quatre minutes, présentant des convulsions, dyspnée, congestion du foie, hémorragies pulmonaires, etc. Inoculés dans la carotide avec 0,5 ou 0,6 centimètre cube de ce sérum, les cobayes ont des convulsions, tombent sur un côté et succombent en quatre heures et demie à sept heures. Avec une dose plus grande (1 centimètre cube), certains cobayes succombent l'injection dans la carotide à peine terminée, d'autres présentent les phénomènes carotals décrits par Forssman, très accentués, avec des troubles oculaires, mouvements de manège, roulements autour de l'axe longitudinal, se terminant par la mort en temps variable ou par le retour à l'état normal. D'autre fois, le cobaye a des mouvements spasmodiques immédiatement après l'injection, il avance en sautant sur les quatre pattes, esquisse à peine des mouvements de manège, tombe tantôt d'un côté, tantôt de l'autre, se gratte, pousse des cris faibles et meurt en quelques minutes, deux à dix minutes au plus tard.

A l'ouverture des cadavres des animaux morts rapidement ou plus tard après le choc carotal, ou à l'autopsie des animaux sacrifiés, on trouve, à côté de la congestion du foie et de l'œdème pulmonaire, des lésions caractéristiques dans le système nerveux central. Nous décrirons l'aspect macroscopique et microscopique des lésions trouvées dans le système nerveux.

A l'examen microscopique, le système nerveux central, dans sa moitié supérieure, présente une tuméfaction et une coloration plus foncée dans la moitié correspondant à la carotide dans laquelle l'injection a été pratiquée.

Dans tous nos cas, l'injection ayant été faite dans la carotide droite, c'est la moitié droite du système nerveux central qui s'est tuméfiée et a présenté une coloration plus foncée. Dès que nous relevons la calotte cranienne, les deux hémisphères cérébraux se présentent comme deux moitiés inégales comme volume et différentes comme coloration : celle de droite, hyperémique, passant sur celle de gauche, pâle. De même, le pédoncule droit est agrandi, et la moitié de droite de la protubérance et du bulbe est proéminente et présente une coloration violacée.

Si nous pratiquons des sections transversales à des niveaux

différents du névraxe, nous constatons que la substance blanche et la substance grise qui entrent dans la constitution des différentes régions présentent une forte hyperémie dans la moitié droite de la surface de section. Grâce à ce fait, toute cette portion prend une coloration violacée foncée homogène, parsemée çà et là de petits points et de régions de couleur foncée correspondant aux hémorragies capillaires multiples. Cette portion hyperémiée violacée présente un contraste net avec la moitié opposée gauche de la surface de section, qui est pâle. La limite entre ces deux régions de coloration différente est formée par le raphé, qui est poussé de façon évidente à gauche à cause de l'œdème de la moitié droite.

La surface de section se présente ainsi partagée en deux moitiés de grandeur inégale : celle de droite hypérémique, de couleur foncée, beaucoup hypertrophiée à cause de l'œdème, celle de gauche de couleur pâle et beaucoup plus petite en comparaison avec la précédente.

Cet aspect peut être suivi sur les sections transversales de la moelle cervicale supérieure, du bulbe, de la protubérance, des pédoncules et d'une manière assez prononcée, mais moins évidente que dans les régions précédentes, sur les sections faites dans le cervelet ou dans la portion antérieure des hémisphères cérébraux.

Les animaux ayant succombé au cours des premiers moments (dix à quinze minutes) après l'injection présentent tous cet aspect macroscopique du système nerveux central dans sa partie supérieure. Au contraire, la partie inférieure de la moelle cervicale, dorsale et lombaire, ne présente rien qui diffère de l'aspect nomal.

Le contraste entre le volume et la coloration des deux moitiés symétriques composant la surface de section aux différents niveaux du névraxe est d'autant plus accentué que l'animal succombe ou est sacrifié plus vite après la production du phénomène carotal. Quelques jours plus tard (cinq à dix jours), le contraste diminue et disparaît petit à petit, après un temps plus ou moins long.

Microscopiquement, ce qui caractérise la lésion prédominante du système nerveux central, c'est l'hypérémie vasculaire, l'œdème des substances grise et blanche et les multiples hémorragies disséminées dans des régions différentes. Tous les capillaires sanguins de la moitié droite du névraxe sont dilatés et pleins de sang.

La vascularisation capillaire de cette partie est visible dans tous ses détails. Par contre, les capillaires de la moitié gauche sont vides de sang et invisibles à l'examen fait avec un objectif faible. Le raphé forme la ligne de séparation nette entre ces deux moitiés. La substance grise, aussi bien que la substance blanche de la moitié droite, sont le siège d'un œdème prononcé produit par la stase sanguine. Les cellules nerveuses, leurs prolongations comme les fibres myéliniques, présentent un degré quelconque d'altération en rapport avec l'étendue et la durée des lésions produites.

Les foyers hémorragiques, la plupart d'entre eux microscopiques, quelques-uns visibles même à l'œil nu, intéressent sans préférence tant la substance grise que la substance blanche. Nous pouvons toutefois affirmer que le territoire où l'on rencontre les lésions les plus nombreuses et les plus étendues, correspondrait au territoire bulbo-protubérantiel.

Tous les phénomènes cliniques manifestés par l'animal qui supporte l'injection intracarotidienne sont dus aux lésions des nuclés de ce territoire. Le nuclé du vago-spinal, le nuclé de l'acoustique, du vestibulaire et les nuclés oculo-moteurs autour de l'aqueduc de Sylvius sont presque toujours atteints et les troubles de leurs fonctions forment la caractéristique de la symptomatologie des phénomènes carotals. En outre, la stase sanguine et les hypérémies microscopiques des autres régions comme le cervelet, les nuclés opto-striés, etc., changent, compliquent et font varier à l'infini l'aspect clinique des manifestations carotales. La lésion primordiale et qui domine dans tous les cas examinés par nous est la lésion vasculaire et notamment la lésion des endothéliums des capillaires, qui favorise les multiples hémorragies répandues dans toute cette région du névraxe.

Ces lésions vasculaires provoquent des troubles et altèrent la substance nerveuse qui se trouve sous leur dépendance circulatoire directe. Les cellules et les fibres nerveuses des territoires dans lesquels toute la circulation est troublée ou supprimée (stase, œdème, hémorragies) présentent des lésions en rapport avec le degré d'altération vasculaire des territoires dont dépendent leurs échanges nutritifs. Ces altérations varient en rapport avec le temps et l'étendue des lésions. Il est évident que les animaux qui succombent dans les premiers moments après l'injection présenteront des altérations microscopiques du névraxe où les lésions vasculaires sont les plus caractéristiques. Les altérations du tissu nerveux, consécutives à celles-là, ne sont pas aussi prononcées,

parce qu'elles n'ont pas eu le temps nécessaire pour pouvoir se produire. A cause de cela, nous ne pouvons que rappeler qu'elles consistent en une légère tuméfaction des cellules et de leurs prolongations, avec un commencement de chromatolyse des corps de Nissl.

Par contre, chez les animaux qui succombent dix à quinze jours après l'injection, les lésions vasculaires diminuent, un nouveau régime circulatoire compensateur est rétabli et seuls les territoires où l'apport sanguin nécessaire à l'entretien de la vie cellulaire manque complètement, présentent des lésions de dégénérescence tissulaire plus ou moins étendues et accentuées.

Nous trouvons là différents aspects de dégénération des cellules nerveuses, tuméfaction extrême, vacuolisation protoplasmatique, allant jusqu'à la destruction des fibres myéliniques avec la formation de corps granuleux, altérations des cylindraxes avec épaississements monoliformes et bulles terminales, commencement de prolifération névroglique, etc.

En résumé, nous pouvons conclure que toute la symptomatologie du choc carotal est sous la dépendance des troubles circulatoires du système nerveux central.

De leur intensité et de leur étendue dépend la gravité, la multiplicité, la variation de ces symptômes.

Les lésions vasculaires provoquent et commandent les lésions rencontrées dans le système nerveux au cours de nos expériences.

CONCLUSIONS

La bactéridie charbonneuse contient un antigène hétérophile. Cette propriété de la bactéridie a été mise en évidence par les expériences suivantes :

1° Une macération de bacilles charbonneux fixe spécifiquement *in vitro* l'anticorps Forssman ;

2° L'antigène résiduel charbonneux (substance hydrocarbonée spécifique) fixe *in vitro* le complément en présence de l'anticorps Forssman ;

3° Lorsqu'elle est inoculée au lapin, la bactéridie charbonneuse est capable de produire de l'hémolysine pour les érythrocytes de mouton ;

4° Cette hémolysine est absorbée par la bactéridie charbonneuse ;

5° Le sérum anticharbonneux préparé sur le lapin donne *in vitro*, avec l'antigène Forssman, une réaction spécifique ;

6° Ce sérum est toxique pour le cobaye; une injection intra-carotidienne dans la direction du cœur produit parfois le phénomène du shock carotal décrit par Forssman ;

7° Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence la présence des anticorps Forssman dans le sérum des chevaux immunisés contre la bactéridie charbonneuse. Ce sérum ne dévie pas le complément *in vitro* en présence de l'antigène Forssman (reins de cobaye, etc.).

BIBLIOGRAPHIE

1. Ballner et Sagasser (V.) : « Ueber die Bildung von homologen und heterologen Agglutininen im Tirkörper. » (*A. f. Hyg.*, 1904, XLI.)
2. Bordet (J.) : *L'immunité dans les maladies infectieuses*, 1920, Masson.
3. Césari (E.) : « Etude sur la flocculation des extraits alcooliques d'organes par les sérums normaux et les antisérums. » (*Ann. Pasteur*, 1922, XXXVI, 339.)
4. Collins (Catharine R.) : « The production of agglutinins in the animal body by the inoculation of substances other than products of bacterial origin. » (*J. of Exp. med.*, 1908, X, 529.)
5. Combiesco (D.), Soru (E.), Stamatesco (S.) : « Recherches sur les substances solubles spécifiques de la bactéridie charbonneuse. » (*Arch. roum. de Path. exp. et de Microb.*, 1929, II, 21.)
6. Combiesco (D.), Stamatesco (S.), Nestoresco (N.) et Adam (C.): *C. R. Soc. de Biologie*, 1930, CIV, 1147.
7. Doerr et Hallauer (C.) : « Ueber die Antigenfunktionen des Forssmanschen Lipoids und anderer lipoider Haptene. » (*Zschr. f. Immunitätsf.* 1925, XLV, 170, et 1926, XLVII, 291.
8. Doerr et Hallauer (C.) : « Der anaphylaktische Antikörper und seine Beziehungen zu den Proteine sowie zu den anderen Antikörper-funktionen der Immunsera. » (*Zschr. f. Imm. Forsch.*, 1926, XLVII, 363.)
9. Doerr et Pick : « Ueber den Mechanismus der primären Toxizität der Antisera und die Eigenschaften ihrer Antigene. » (*Biochem. Zschr.*, 1913, V, 129.)
10. Ehrlich (P.) et Morgenroth (J.) : « Ueber Hämolysine. » (*Berl. Kl. Woch.*, 1901, XXXVIII, 569, 598.)
11. Forssman (J.) : « Die Herstellung hochwertiger specifisher Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblutt. Ein Beitrag zur Lehre von heterologer Antikörperbildung. » (*Bioch. Zschr.*, 1911, XXXVII, 78.)
12. Forssman (J.) : « Ueber die Identität oder Verschiedenheit gleichwirkender hämolitischer Antigene in einigen durch Verwandschaftsreaktionen verbundenen Blutarten. » (*Bioch. Zschr.*, 1916, LXXVII, 104.)
13. Forssman (J.) : « Ein neues Krankheitsbild nach Seruminjektionen. » (*Bioch. Zschr.*, 1920, CX, 164.)
14. Forssman (J.) : « Studies on the carotal symptome of guinea pigs after injections of certain sera and suspensions. » (*Acta path. et microb. scand.*, 1927, III, 749.)
15. Forssman (J.) : « Die heterogenetischen Antigene, besonders die sog. Forssman-Antigene und hre Antikörper. » (*Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 1928, III, 469.)

16. Forssman (J.) u. Skoog (Th.) : « The revers anaphylaxis and the carotal complex of simptoms in their relation to china ink. » (*Acta path. et microb. scand.*, 1925, II, 55.)
17. Fleischer, Hall et Nath, Arnstein : « Serological Relationships of liver and kidney. » (*Journ. of Immun.*, 1920.)
18. Friedberger et Collier : « Ueber heterogenetische Antigene und Antiköper. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1919, XXVII, 237.)
19. Friedberger (E.) et Schröder (P.) : « Histologische Veränderungen im Gehirn von Meerschweinchen und Kaninchen bei primären Antiserum-Giftigkeit und bei Einspritzung Normalsera (carotalzentraler Einspritzung des Serums). » (*Zschr. f. ges. Exp. Med.*, 1922, XXVI, 287.)
20. Friede (von) : « Von einem neuen heterogenetischer Antigen und Bildung heterogenetischer Antikörper bei den Tieren vom Meerschweinchentypus. » (*Klin. Woch.*, 1924, 1226.)
21. Gaehtgens (W.) : « Untersuchungen über die Bindungsreaktion von Sachs-Georgi, zum Nachweis von Pferdefleisch. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1921, XXXI, 512.)
22. Gutfeld (von) : « Die Hitzebeständigkeit gebundener Antikörper. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1922, XXXIII, 197.)
23. Gutfeld (von) : « Uber die Konstitution isogenetischer und heterogenetischer Hammelbluthämolysine und ihrer Antigene. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1922, XXXII, 524.)
24. Heidelberger (M.) : et Landsteiner (K.) : « On the antigenic properties of hemoglobin. » (*J. of Exp. Med.*, 1923, XXXVIII, 561.)
25. Ingwar Sven : « Zur Anatomie des Simptomkomplexes nach intracarotalen, zentralwärts gerichteten Serum-Injektionen beim Meerschweinchen. » (*Acta path. et microb. scand.*, 1927, IV, 349.)
26. Jijima (T.) : « The Presence of Heterophile Antigene im Bacteria, with Special Reference to Shigas Dysentery Bacillus, A Contribution to the study of Forssman Antigen and Antibody. » (*Journ. et Path. and Bact.*, 1923, XXVI, 518.)
27. Kloptock (A.) : « Untersuchungen über Anaphylaxie gegenüber Lipoiden. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1926, XVLIII, 97, et 141.)
28. Kolle (W.) et Hetsch (H.) : *La Bactériologie expérimentale*, 1918, édition Atar.
29. Landsteiner (K.) : « Ueber heterogenetisches Antigen und Hapten. » (*Bioch. Zschr.*, 1921, CXIX, 294.)
30. Landsteiner (K.) et Simms iS.) : « Production of Heterogenetic Antibodies with Mixtures of the Binding Part of the Antigen and Protein. » (*Journ. of Exp. med.*, 1921, XXXVIII, 127.)
31. Landsteiner (K.) et Levene (P.) : « Observations on the Specific Part of Heterogenetic Antigen. » (*Journ. of Immun.*, 1924, X, 731.)
32. Landsteiner (K.) et Levene (P.-A.) : « On Heterogenetic Haptene. » (*Proc. of the Soc. for exp. Biol. and Med.*, 1926, XXII, 343.)
33. Landsteiner (K.) et Van der Scheer : « On the Antigens of red blood corpuscles. » (*Proc. of the Soc. for. exp. Biol. and Med.*, 1924, XXII, 98.)
34. Landsteiner (K.) et Van der Scheer : « On the Antigen of red blood corpuscles. » (*Journ. of exp. Med.*, 1925, XLI, 427, et 1926, XLII, 123.)
35. Meyer Kurt : « Zur Kenntnis des heterogenetisches Hammelblutantigens. » (*Bioch. Zschr.*, 1921, CXXII, 225.)
36. Meyer Kurt: « Ueber Beziheung des heterogenetischen Hammelblut antigen zu anderen Lipoiden Antigenen. » (*Bioch. Zschr.*, 1922, CXXIX, 189.)
37. Meyer Kurt : « Ueber das Verhalten des Hammelblutimmunsera gegen über den Lipoiden aus organen vom heterogenetischen Typus. Ueber antigene Eigenschaften von Lipoiden. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1924, XL, 84.)
38. Morgenroth : « Hämolitische Versuche mit gegen Maüsecarcinom immunisierendem Serum. » (*B. Klin. Woch.*, 1913, L., 561.)

39. Muttermilch (S.) : « La nature des hémolysines hétérologues. » (*C. R. Ac. Sc.*, 1924, CLXXVIII, 2134.)
40. Muttermilch (S.) : « Hémolysines normales et hémolysines artificielles. » (*Ann. Inst. Pasteur*, 1924, XXXVIII, 1002.)
41. Nicolle (M.) : « Conception générale des anticorps et effets. » *C. R. Soc. Biol.*, 1907, LXIII, 77.)
42. Nicolle (M.) et Césari (E.) : « Conception uniciste des anticorps. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, 457.)
43. Nicolle (M.), Césari et Débains : « Etudes sur la précipitation mutuelle des anticorps et des antigènes. » (*Ann. Inst. Past.*, 1920, XXXIV, 149.)
44. Nicolle (M.) : *Les antigènes et les anticorps.* Masson, 1920.
45. Nuttal : « On the formation of specific antibodies. » (*Journ. of Hyg*, 1901, I.)
46. Nuttal : « The new biological test for blood in relation to zoological classification. » (*Proc. of the R. Soc.*, 1901, LXI.)
47. Powell (H.-M.) : « Heterophile antigen in Bacteria. » (*Journ. of immun.*, 1926, XII, 1.)
48. Rothacker (A.) : « Präcipitation bei Fleischvergiftung, nebst Beobachtungen über Auftreten von Hämolysine gegen Hammelblutkörperchen in Parathyphus B Gartner antiseris. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1913, XVI, 491.)
49. Sachs (H.) et Nathan (E.) : « Immunisierungversuche mit gekochtem Hammelblut, nebst Bemerkungen über Antiserum-anaphylaxie. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1913, XIX, 235.)
50. Sachs (H.) et Georgi (W.) : « Die Verwertbarkeit der Amboceptorverbindung durch koktostabile Receptoren zur Erkennung von Fleischarten. » (*Zschr. Immunitätsf.*, 1914, XXI, 342.)
51. Shiff et Adelsberger : Ueber blutgruppenspecifische Antikörper und Antigene. » (*Zsch. f. Immunitätsf.*, 1924, XL, 335.)
52. Seligmann (E.) et Gutfeld : « Praktische Untersuchungen mit der Bindungsreaktion von Sachs und Georgi zum Nachweis gekochten Fleisches. » (*Berl. Klin. Wochen*, 1919, 964.)
53. Sordelli (A.), Fischer (G.), Wernicke (R.) et Pico (C.) : « Sur les anticorps hétérogénétiques. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, LXXXIV, 173.)
54. Sordelli, Wernicke et Deulofen : « Sur la nature de l'antigène hétérogénétique. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, XCII, 89.)
55. Tsuneoka (R.) : « Ueber heterogenetische Antikörper. » (*Zschr. f. Immunitätsf*, 1914, XXII, 567.)
56. Tsurumi (M.) : « A Serological Investigation of heterologous Immunity to malignant Tumours of the Mouse and Rat. » (*Journ. of Path. and Bact.*, 1915-1916, XX, 214.)
57. Wadsworth et Maltauer : « The purification and concentration of antigens by new methods of absorption. » (*Proc. Soc. Expl. Biol. a Med.*, 1919-1920, IV, 189.)
58. Weil (E.) : « Ueber die Wirkungsweise der beim Meerschweinchen erzeugten Hammelbluthämolysine. » (*Bioch. Zschr.*, 1914, LVIII, 257.)
59. Weil (A.-J.) : « Experimentelle Grundlagen der Antikörperbildung gegen arteigene Lipoide. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1926, XLVI, 81.)
60. Wells (H. Gideon) : *The chemical aspects of immunity. 1929 by the Chemical Catalog Company*, New-York.
61. Witebsky (E.) : « Ueber die Verteilung heterogenetischer Lipoidantigene im Organismus und die Beeinflussung ihrer immunisatorischen Funktion durch andere Antigene höherer Specifizität. » (*Zschr. f. Immunitätsf.*, 1927, LI, 161.)
62. Zinsser. — *Infection and Resistance*, 1923.
63. Zinsser : « On antigenic properties of horse serum and egg albumin after heat coagulation. » (*Journ. of Imm.*, 1924, IX, 227.)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU PHÉNOMÈNE DE LA CALCIFICATION

(Note préliminaire)

par

A. DAMBOVICEANU

En étudiant les constantes physico-chimiques du sang d'*Astacus fluviatilis* normal et en période de mue, nous avions constaté (1) que le taux du calcium variait, chez l'animal à l'état normal, entre 43 et 55 milligrammes pour 100 centimètres cubes de sang. Il augmentait légèrement au voisinage de la mue et se maintenait aussi bien avant la chute de la carapace que pendant tout le temps de la calcification entre 51 et 68 milligrammes pour 100 centimètres cubes de sang.

Comme l'Astacus accumulait longtemps avant la chute de sa carapace du *calcium* dans les gastrolithes (yeux d'écrevisses, localisés au-dessus de la cuticule, dans le sac cardiaque) et que ces formations ne disparaissaient que progressivement pendant la calcification de la nouvelle carapace, nous avions cru pouvoir supposer que le sang n'avait chez l'Astacus que le rôle d'un vecteur transportant le calcium soluble au fur et à mesure des nécessités.

Ayant observé en même temps que le pH du sang d'Astacus à la mue s'élevait parfois de 7,8 à 8,2, nous avions pensé que les solubilisations et précipitations successives du calcium pouvaient être dues : soit à l'apparition d'une *substance (ferment ?) soluble* dans le plasma favorisant la précipitation du calcium aussitôt que son taux dépassait certaines limites, soit à l'apparition dans la membrane d'éléments cellulaires qui modifiaient le pH en absorbant ou en libérant du CO^2.

Pour vérifier ces deux hypothèses, nous nous sommes proposé d'étudier :

(1) A. Dambovicéanu : « Recherches sur les constantes physico-chimiques du plasma des invertébrés. » (*Arch. roumaines de Pathol. expér.*, 1929, II, 1.)

1° Les variations du *calcium*, de la *réserve alcaline* et du *pH* dans le plasma et dans le contenu stomacal de l'Astacus deux mois avant, pendant la calcification de la nouvelle carapace et deux mois après.

2° L'action précipitante *in vitro* du plasma d'écrevisses en période de mue sur une solution de chlorure de calcium.

3° Les modifications cytologiques éventuelles de la membrane d'écrevisse au moment de la mue.

Seuls les résultats obtenus dans les deux premières séries de recherches seront exposés dans cette note; l'étude des modifications cytologiques, ainsi que celle incomplètement résolue de l'apparition dans le plasma d'une substance favorisant la précipitation du calcium sont encore en cours d'expérimentation et leurs résulats paraîtront dans une publication ultérieure.

TECHNIQUE

Nos recherches ont porté sur un lot de 100 écrevisses de grande taille, procurées au début de mai, maintenues dans de grands bacs à eau courante et nourries de viande de bœuf finement hachée.

Le sang obtenu de la cavité générale par la ponction de la base des pattes à l'aide d'une pipette en verre effilée était recueilli sur du citrate de soude ou agité avec des perles de verre pour empêcher sa prise en masse.

Le liquide clair décanté, après centrifugation, servait aux dosages du calcium, à la détermination de la réserve alcaline et du pH.

Le contenu stomacal était facilement recueilli à l'aide d'une pipette de verre que nous introduisions directement dans l'estomac en éloignant avec précaution la deuxième paire de grosses mandibules de l'armature buccale. Après centrifugation, on obtenait un liquide clair toujours fortement coloré en brun.

Le calcium a été dosé comparativement dans le plasma citraté, dans le sérum (sang défibriné) et dans le contenu stomacal par la méthode de Kramer-Tisdall, c'est-à-dire : précipitation sous forme d'oxalate de calcium (1 centimètre cube liquide à examiner + 0,5 centimètre cube sol. sat. d'oxalate d'ammonium + 1 centimètre cube sol. d'acétate de soude); repos, trente minutes au moins; centrifugation, décantation, deux lavages à l'eau bidistillée contenant 2 % d'ammoniaque, dissolution du

précipité dans une solution au dixième d'acide azotique, chauffage au bain-marie à 70°, titration par une solution fraîchement préparée de permanganate de potassium N/100. Le nombre de centimètres cubes de permanganate employé multiplié par 200 donne le taux de calcium en milligrammes pour 100 centimètres cubes de liquide examiné.

La réserve alcaline a été déterminée par la méthode de Van Slyke. Des dosages comparatifs faits sur le plasma citraté aussitôt après la sortie du corps de l'animal ou sur du plasma citraté resaturé par le CO^2 après l'exposition d'une à deux heures à l'air, nous ont donné des valeurs superposables.

Tous nos dosages ont été faits sur du plasma citraté, resaturé avec du CO^2 immédiatement avant l'expérience. La richesse en albumines du plasma d'écrevisses à la mue, ainsi que la forte coagulation des mêmes albumines par l'acide sulfurique à un dixième nous ont obligé de travailler sur 1 centimètre cube de plasma, dilué de moitié avec de l'eau distillée privée de CO^2.

Le pH a été déterminé par la méthode colorimétrique (à la goutte) de Howard-Brown et contrôlé, quand cela était possible, par la méthode électrométrique (dispositif Michaelis).

L'action précipitante du plasma *in vitro* a été expérimentée à l'aide d'une solution à 1 % de chlorure de calcium répartie dans des tubes à hémolyse, à raison de 1 centimètre cube pour chaque tube. On y ajoutait une à deux gouttes de sang total d'écrevisse aussitôt après sa sortie du corps et lorsqu'il nous était possible de récolter de plus grandes quantités de sang, une à deux gouttes de plasma citraté ou de sérum (sang défibriné). On notait, si elle avait lieu, l'apparition instantanée d'un trouble ou la formation d'un précipité, au bout de quelques heures.

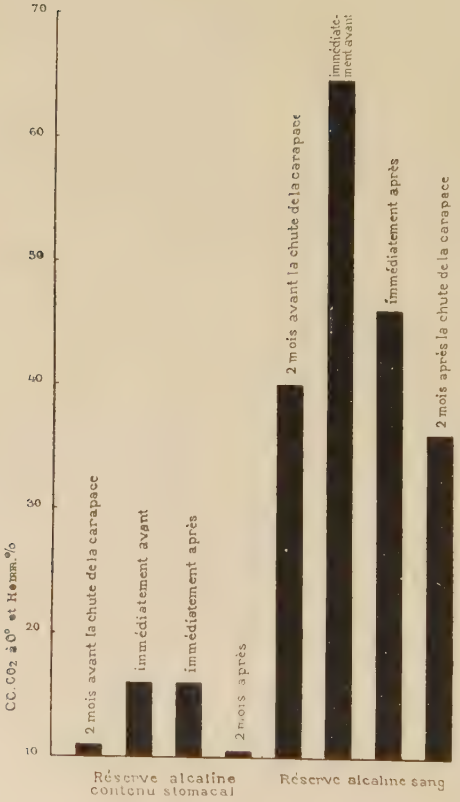
Voici les résultats de ces recherches :

1° La réserve alcaline du sang d'écrevisse varie à l'état normal entre *36,4 et 37,2 centimètres cubes* de CO^2 (à 0° et 760 mm. de pression) pour 100 centimètres cubes de sang.

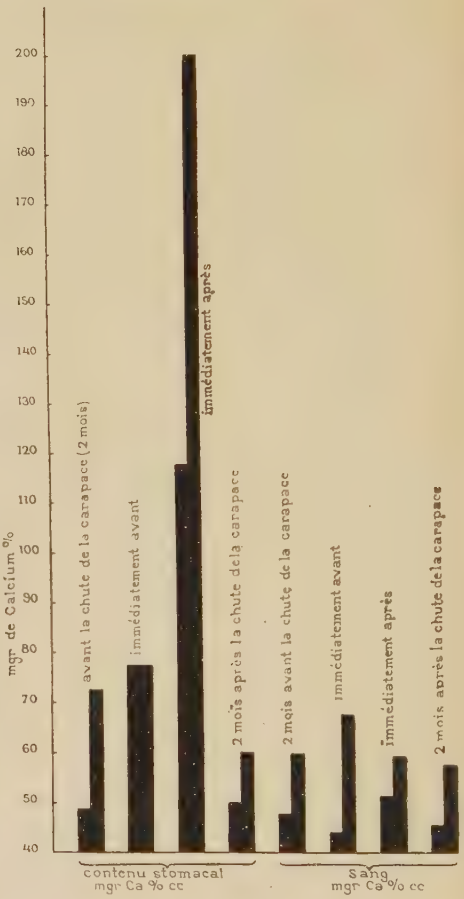
Elle augmente à l'approche de la mue, atteint les plus grandes valeurs immédiatement avant la mue (*67,2-64,9 centimètres cubes*, CO^2 % de sang), baisse immédiatement après la chute de la carapace à des valeurs allant de 44,3 à 48,1 et est complètement revenue aux valeurs normales deux mois après la calcification.

La réserve alcaline du contenu stomacal est aussi bien en temps normal qu'en temps de mue extrêmement faible, elle varie entre $>$ 10,7 et 14,7 centimètres cubes de CO^2 % centimètres cubes de liquide.

2° Le *pH* du sang d'*Astacus fluviatilis* est égal à 7,7-7,8 en temps normal, il augmente au moment de la mue à 8-8,2, pour revenir à des valeurs normales après la calcification. Le pH du



N° 1. — Graphique représentant les variations de la réserve alcaline dans le plasma et le contenu stomacal de l'Astacus en train de muer.



N° 2. — Graphique représentant les variations du calcium dans le plasma et le contenu stomacal de l'Astacus en train de muer.

contenu stomacal est très bas, il varie aussi bien en temps normal qu'au moment de la mue entre 5,4 et 5,6.

3° Le taux du *calcium* varie dans le sang entre les mêmes limites (44-59 milligrammes pour 100 % centimètres cubes de

sang), aussi bien en temps normal qu'à la mue. Nous avons trouvé le chiffre le plus élevé (68 milligrammes %) chez une écrevisse, *immédiatement avant* la chute de sa carapace. Le calcium soluble dans le suc stomacal, qui varie en temps normal entre 44,8 et 72 milligrammes pour 100 centimètres cubes, s'élève par contre jusqu'à 200 milligrammes pour 100 centimètres cubes pendant la période de la calcification.

TABLEAU RÉSUMANT LES VARIATIONS DE LA RÉSERVE ALCALINE ET DU CALCIUM DANS LE SANG ET LE CONTENU STOMACAL DE L'ÉCREVISSE EN TRAIN DE MUER

Époque de la prise du sang	Réserve alcaline cc. CO^2 °/₀ à 0° et 760 mm.		Mgr. de calcium pour 100 cc. de	
	Sang	Contenu stomacal	Sang	Contenu stomacal
1° *Deux mois avant* la chute de la carapace	40,6	11,0	47-59	48,8-72
2° *Immédiatement avant* la chute de la carapace	67,2-64,9	14,7	44,4-68	75
3° *Immédiatement après* la chute de la carapace	44,3-48,1	14,7	48-56	117-200
4° *Deux mois après* la chute de la carapace	36,4-37,2	10,7	46-55	50-60

4° Quant à la précipitation *in vitro* du calcium par le sang d'Astacus, nous avons observé les faits suivants :

Le sang de l'animal normal ou de l'animal immédiatement avant la chute de la carapace ne trouble jamais la solution de chlorure de calcium *in vitro,* même si l'on ajoute à 1 centimètre cube de $CaCl_2$, un excès, c'est-à-dire cinq à six gouttes de sang, de plasma citraté ou de sérum. Il en est de même du contenu stomacal.

Par contre, une seule goutte, parfois, de sang d'Astacus en train *de consolider* sa carapace est suffisante pour troubler fortement la solution de $CaCl_2$ et provoquer au bout de quelques heures la formation d'un abondant précipité amorphe.

En saignant toutes les deux heures la même écrevisse pendant la période de calcification, nous avons constaté que cette propriété précipitante du sang ne se manifestait pas constamment; comme si le ferment ou la substance précipitante apparaissait et disparaissait de la circulation selon les nécessités de la précipitation ou de la solubilisation du calcium.

Nous avons observé, en plus, *que le sang des animaux qui meurent* au bout de douze à vingt-quatre heures après la chute de l'ancienne carapace *sans arriver à consolider* la nouvelle *ne trouble jamais* la solution de chlorure de calcium *in vitro*. En sacrifiant les mourants, nous avons eu la surprise de voir qu'ils avaient pourtant épuisé complètement, ou en partie, leurs réserves calcaires. L'incapacité de consolider leur carapace pourrait peut-être s'expliquer par l'absence dans le plasma de la substance précipitant le calcium, ou par la présence d'une substance antagoniste empêchant la première de manifester son action.

Le pouvoir coagulant du sang d'Astacus après la chute de la carapace est tellement accentuée, que l'on peut à peine obtenir quelques gouttes ; de plus, un animal qui a été saigné trois à quatre fois pendant la période de calcification *meurt* sans arriver à la fin de la consolidation. Voilà pourquoi il nous a été absolument impossible d'étudier la nature de la substance précipitante et de voir par les réactions usuelles si elle avait réellement les caractères d'un ferment.

A la suite des conseils du professeur J. Cantacuzène, nous nous sommes proposé de voir si l'on ne pouvait pas déceler une substance analogue dans le sérum des hommes et des animaux en train de consolider une fracture quelconque.

Nos premières recherches ont été faites sur un chien mâle, âgé d'à peu près un an.

Le 24 juin, l'animal a été saigné par ponction de la jugulaire. On a prélevé 6 à 7 centimètres cubes de sang; une portion a été recueillie sur du citrade de soude, l'autre a été abandonnée à la coagulation. Après centrifugation et décantation, on a déterminé la réserve alcaline du plasma citraté et l'on a dosé le contenu en calcium du sérum, ainsi que son action précipitante sur une solution de chlorure de calcium *in vitro*.

Après la saignée, les radius et cubitus droits de l'animal, préalablement endormi, ont été brisés expérimentalement. La fracture a été immobilisée immédiatement après, avec des atèles. Le chien, gardé à vue et nourri normalement, a été saigné tous les deux ou trois jours. On prélevait chaque fois 6 à 7 centimètres cubes de sang que l'on divisait et analysait comme il a été dit plus haut (1).

L'expérience a duré seize jours. Voici les résultats obtenus :

(1) Nous exprimons nos remerciements à MM. les docteurs Cosăcescu, Wisner et Mesrobeanu pour le concours qu'ils ont bien voulu nous prêter pendant toute la durée de cette expérience.

1° Le taux du calcium égal à 7,8 mgr. pour 100 centimètres cubes de sérum, avant la fracture; baisse légèrement les premiers deux jours (6,8 mgr. %) après la fracture des os; il augmente ensuite, passe par un maximum vers les treizième et quatorzième jours (17 mgr. %), baisse de nouveau, mais sa valeur était restée supérieure (11,6 mgr. %) à la valeur initiale (7,8 mgr. %) le seizième jour de notre expérience, lorsque la fracture paraissait complètement consolidée.

2° La réserve alcaline augmente vers le dixième jour, de 30.7 à 47,5 (cc.CO_2 à 0° et 760 mm. pour 100 centimètres cubes), elle oscille ensuite entre 41 et 44,8, pour revenir à la normale le seizième jour.

3° Pendant toute la période de la calcification, le sérum de l'animal ne trouble pas la solution de chlorure de calcium *in vitro*. Ce n'est qu'un seul échantillon, celui récolté huit jours après la fracture des os, qui produit instantanément un louche, suivi de la formation d'un léger précipité au bout de quelques heures. L'apparition de ce pouvoir précipitant du sérum coïncide à peu près avec l'augmentation de la réserve alcaline.

TABLEAU RÉSUMANT LES VARIATIONS DE LA RÉSERVE ALCALINE, DU CONTENU EN CALCIUM ET DU POUVOIR PRÉCIPITANT DU SÉRUM DE CHIEN EN TRAIN DE CONSOLIDER UNE FRACTURE OSSEUSE.

	Nombre de jours passés depuis la fracture des os									
	0	2	4	8	10	11	12	13	14	16
Mgr. de calcium pour 100 cc.	7,8	6,8	14	11,8	12,2	10,6	12,0	17	16,6	11,6
Réserve alcaline (cc. de CO 2 °/₀ à 0° et 760 mm.)	31,7	31,0	31,7	41,0	47,5	42,0	44,8	41 0	42,9	31,7
Pouvoir précipitant....	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—

Nous avons pu constater en plus que le sérum récolté huit jours après la fracture des os conservait presque intact son pouvoir précipitant après un séjour d'une semaine à la glacière. Chauffé pendant une heure à 55°, il précipitait encore le calcium *in vitro*, mais son pouvoir précipitant semblait être réduit, comme il résulte des chiffres suivants :

1° Solution-mère de $Ca\ Cl_2$ + 20 gouttes d'eau bidistillée.. 2.95 mgr. Ca °/₀ cc.

2° Solution-mère de $Ca\ Cl_2$ + 20 gouttes de sérum précipitant après séjour de douze heures à 4° et centrifugation 2.32 mgr. Ca °/₀ cc.

3° Solution-mère de $Ca\ Cl_2$ + 20 gouttes sérum précipitant chauffé pendant une heure à 15° après séjour de douze heures à 40° et centrifugation ..... 2.64 mgr. Ca °/₀ cc.

Si l'on exprime le pouvoir précipitant d'un sérum par les milligrammes de calcium précipité de la solution-mère de $CaCl_2$, il résulte que :

— le pouvoir précipitant du sérum non chauffé est égal à 0,63;

— le pouvoir précipitant du sérum chauffé à 55° est égal à 0,31;

— le pouvoir précipitant du sérum (8) a donc été réduit de 0,32, après un chauffage d'une heure à 55°.

La petite quantité de sérum dont nous disposions ne nous a pas permis de pousser plus loin l'analyse du ferment.

Nous nous proposons de compléter et de confirmer, si cela est possible, ces observations en étudiant le sérum de lapins en train de consolider des fractures expérimentales.

CONCLUSIONS

A. — Le phénomène de la calcification de la carapace chez l'Astacus en train de muer est caractérisé par :

1° Une augmentation de la réserve alcaline du sang dans la période *immédiatement avant la mue* ;

2° Une augmentation de pH du sang pendant la période de mue ;

3° Une augmentation considérable du taux du calcium, soluble dans le suc stomacal pendant *la période de calcification*. Tandis que le taux du calcium soluble dans le sang, ainsi que la réserve alcaline et le pH du suc stomacal gardent sensiblement les mêmes valeurs, aussi bien avant que pendant la mue.

B. — Chez un chien en train de consolider une fracture osseuse provoquée, nous avons constaté :

1° L'augmentation du calcium soluble dans le sérum sanguin;

2° L'augmentation de la réserve alcaline du plasma citraté.

C. — De plus, *fait extrêmement intéressant* enfin, nous avons observé pendant la période de calcification, aussi bien pour l'Astacus que pour le chien, *l'apparition dans le sérum sanguin d'une substance capable de précipiter le calcium* IN VITRO.

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE MORPHOLOGIQUE ET BIOLOGIQUE DE QUELQUES STRIGÉIDÉS DES OISEAUX ICHTYOPHAGES DE LA FAUNE DE ROUMANIE

(Recherches expérimentales)

par

I. CIUREA

(Travail du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest)

Avec les planches I-XVII.

Dans ce travail nous allons nous occuper de la morphologie et de la biologie des trématodes suivants :

1. *Apharyngostrigea cornu (Gze., Zeder 1800) Ciurea,* 1927 ;
2. *Neodiplostomum cuticola, Ciurea,* 1930 ;
3. *Neodiplostomum perlatum, Ciurea,* 1929 ;
4. *Proalaria trilobum (Rud.), La Rue,* 1926 ;
5. *Proalaria confusum* (*Krause,* 1914), *La Rue,* 1926.

Les contributions d'ordre morphologique se réfèrent à la description des formes adultes de ces trématodes et de leurs métacercaires (parmi lesquelles deux espèces nouvelles: *Diplostomum trilobum et Diplostomum confusum*). En ce qui concerne les études biologiques, elles se rapportent surtout à l'évolution des métacercaires de *Neodiplostomum cuticola* et de *Proalaria trilobum* jusqu'au stade ovigère.

1° *Apharyngostrigea cornu (Gze., Zeder 1800), Ciurea,* 1927.

Le 10 août 1929, on nous apporta deux jeunes hérons cendrés *(Ardea cinerea L.)* des environs de l'étang Greaca (dép. Ilfov). Un de ces hérons étant gravement blessé, nous l'avons immédia-

tement sacrifié ; l'autre était en parfait état, ce qui nous a permis de le conserver pour des recherches expérimentales jusqu'au 20 octobre. Pendant ce temps (soixante-dix jours), nous l'avons nourri avec les espèces suivantes de poissons : athérine [*Atherina pontica Eichwald*], rotangle [*Scardinius erythrophthalmus (L.)*], brême [*Abramis brama (L.)*] et spécialement ablette [*Alburnus alburnus (L.)*].

Dans l'intestin de ces hérons, nous avons trouvé parmi d'autres trématodes deux espèces de *Strigeatoidea,* à savoir : *Apharyngostrigea cornu* et *Neodiplostomum cuticola.* Nous allons nous occuper d'abord du premier de ces deux trématodes.

LES EXEMPLAIRES OVIGÈRES

Dans l'intestin du héron sacrifié le 10 août, nous avons trouvé 125 *Apharyngostrigea cornu* ovigères, et dans l'intestin de celui sacrifié le 20 octobre, nous avons trouvé 427 exemplaires ovigères, qui mesuraient 3,06-6,69 millimètres de long (dont 0,92-1,61 millimètre pour la portion capsulaire et 2,14-5,08 millimètres pour la portion cylindrique) sur 0,82-1,05 millimètre de large pour la portion antérieure et 0,49-0,99 millimètre pour la portion postérieure. Dans un travail antérieur, nous avons décrit les caractères morphologiques des exemplaires ovigères ; nous décrivons cette fois les exemplaires non ovigères.

LES EXEMPLAIRES NON OVIGÈRES

De l'intestin du premier héron, nous avons pu recueillir 478 exemplaires non ovigères, très petits, mesurant 0,59-0,66 millimètre de long, ressemblant à des Tetracotyles peu évolués, et de l'intestin du deuxième héron, nous avons recueilli 242 exemplaires d'*Apharyngostrigea* non ovigères mesurant 0,72-2,21 millimètres de long.

La forme du corps des exemplaires les plus jeunes (fig. 1) provenant du premier héron ressemble à celle d'un cornet largement ouvert sur la face ventrale. La portion antérieure du corps, qui est représentée par une cavité conique mesure 0,47-0,50 millimètre de long sur 0,39 millimètre de large ; elle se continue à peu près insensiblement avec la portion postérieure, également de forme conique, mais plus petite (0,10-0,15 millimètre de long sur 0,15-0,18 millimètre de large), cette dernière portion du corps étant un peu pliée sur la face dorsale.

Dans le plan médian de l'extrémité antérieure, on observe la ventouse buccale, orientée vers la face ventrale, mesurant 0,066-0,077 millimètre de long sur 0,088 millimètre de large ; les deux pseudo-ventouses céphaliques, peu caractéristiques, situées des deux côtés de la ventouse buccale, mesurent environ 0,17 millimètre de diamètre. A une distance d'à peu près 0,088 millimètre du bord postérieur de la ventouse buccale, on trouve la ventouse abdominale, presque double de la buccale; l'appareil de fixation, ayant la forme d'une cloche, occupe la plus grande partie de la cavité de la portion antérieure du corps ; à son intérieur, elle présente un appendice échancré sur la ligne médiane. La glande de l'appareil de fixation, située immédiatement en arrière, a un contour ovoïdal mesurant environ 0,15 millimètre dans le sens longitudinal et 0,18 millimètre dans le sens transversal. Elle se compose de lobules plus ou moins triangulaires avec les sommets concentriques ; ces lobules possèdent des cellules pourvues de petits noyaux arrondis qui, sur les coupes en séries colorées par hémalun-éosine, prennent une teinte bleu foncé.

En ce qui concerne le tube digestif, il faut signaler l'absence du pharynx ; un œsophage très court, en continuation avec les deux branches intestinales, qui descendent jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure du corps. Les ébauches de l'ovaire et des testicules sont représentées par trois petites agglomérations cellulaires successives très difficiles à distinguer, situées dans la portion postérieure du corps, entre les deux canaux excréteurs, qui vont aboutir par un très court canalicule dans le pore excréteur ; celui-ci est situé à l'extrémité postérieure.

Les exemplaires non ovigères d'*Apharyngostrigea cornu* provenant du deuxième héron (fig. 2-4) ont déjà le corps formé d'une portion antérieure capsulaire, mesurant 0,48-0,98 millimètre de long sur 0,52-0,81 millimètre de large et d'une portion postérieure cylindrique mesurant 0,24-1,23 millimètre de long sur 0,29-0,42 millimètre de large. Chez ces exemplaires, qui étaient dans différents stades d'évolution, nous avons pu observer que la deuxième portion du corps se développait plus rapidement que la première et qu'en même temps les ébauches de l'ovaire et des testicules augmentaient aussi et prenaient de plus en plus leur aspect définitif ; de sorte que les individus des stades les plus avancés, autant par la conformation du corps que par l'aspect des glandes génitales, avaient l'apparence d'*Apharyngostrigea cornu* adulte.

2° *Neodiplostomum cuticola, Ciurea, 1930.*

Dans un travail antérieur publié dans un périodique roumain, nous avons émis l'opinion que *Neascus cuticola (v. Nordmann, 1832), Hughes,* 1928, n'appartenait pas à *Apharyngostrigea cornu,* comme l'admettaient Scheuring et Eversbusch, mais à un trématode nouveau de la famille des *Strigeidae,* que nous avons nommé *Neodiplostomum cuticola.*

LES EXEMPLAIRES OVIGÈRES

Dans l'intestin du héron cendré que nous avons sacrifié le 20 octobre, nous avons trouvé 70 exemplaires de *Neodiplostomum cuticola,* dont 67 dans le tiers antérieur et 3 dans le tiers moyen. Tous ces trématodes étaient ovigères; ils ressemblaient assez bien à ceux décrits et figurés (fig. 3 et 4) par Scheuring et Eversbusch comme des stades évolutifs de *Strigea cornu Rud.* Ils mesuraient 1,21-2,04 millimètres de long. Leur corps est partagé par un étranglement bien marqué en deux portions inégales, l'une antérieure, plus grande, mesurant 0,69-1,18 millimètre de long sur 0,69-0,92 millimètre de large, et l'autre, postérieure, 0,52-0,85 millimètre de long sur 0,39-0,49 millimètre de large. La portion antérieure du corps est lamelleuse, 0,058-0,098 millimètre d'épaisseur ; légèrement excavée sur la face ventrale, elle a un contour ovale, avec les bords latéraux un peu repliés vers la face ventrale, spécialement au voisinage de la limite des deux portions du corps, où ils se réunissent dans le plan médian pour former un repli membraneux avec le bord ondulé. Sur la cuticule de cette portion du corps, on observe de très petites écailles, qui descendent en diminuant jusqu'au niveau de la ventouse abdominale ; sur les bords latéraux du corps, ces écailles ont l'aspect de petites épines dont les pointes seulement dépassent le niveau de la cuticule. La portion postérieure du corps, plus ou moins conique, est quelquefois un peu recourbée sur la face dorsale.

Sur la face ventrale de la première portion du corps, on trouve la ventouse buccale mesurant 0,057-0,074 millimètre de long sur 0,066-0,072 millimètre de large ; la ventouse abdominale, un peu plus grande (0,061-0,079 millimètre de long sur 0,077-0,085 millimètre de large) que la buccale, est située en arrière du milieu de cette portion du corps. A une distance de 0,039-0,12 millimètre de la ventouse abdominale, on observe l'appareil de fixation, de

forme ovoïde, mesurant 0,15-0,20 millimètre de long sur 0,12-0,18 millimètre de large. Immédiatement en arrière de l'appareil de fixation et du côté dorsal, on voit une glande allongée transversalement, lobulée, qui, chez les exemplaires coupés en séries et colorés par hémalun-éosine, présente des cellules avec de petits noyaux un peu ovalaires se colorant en bleu foncé. Dans l'épaisseur de l'appareil de fixation, on distingue deux couches glandulaires : une plus centrale, composée de cellules avec des petits noyaux arrondis ou un peu ovalaires qui se colorent en bleu foncé, et une deuxième couche périphérique, lobulée, composée de cellules pourvues de noyaux plus grands, sphériques, qui se colorent en bleu pâle.

Le tube digestif. — A la ventouse buccale succède un prépharynx très court qui se continue par un pharynx un peu plus long que la ventouse buccale, mesurant 0,066-0,077 millimètre de long sur 0,037-0,063 millimètre de large ; celui-ci se prolonge par un œsophage mesurant 0,05-0,11 millimètre de long, qui se bifurque en deux branches intestinales descendant jusqu'à une petite distance de l'extrémité postérieure du corps.

Les organes génitaux mâles. — Les testicules sont situés dans les deux tiers antérieurs de la portion postérieure du corps. Le testicule antérieur, situé dans une des deux parties latérales du corps, est le plus petit, il a la forme d'un fer à cheval et ses branches chevauchent obliquement de haut en bas les organes internes. Sur la face ventrale, il mesure 0,11-0,14 millimètre dans le sens longitudinal et 0,10-0,16 millimètre dans le sens transversal. Le testicule postérieur ressemble également à la forme d'un fer à cheval dont les deux branches inégales montent obliquement, une (la plus longue) jusqu'au voisinage de la limite des deux portions du corps, l'autre (la plus courte) jusqu'au bord postérieur du testicule antérieur ; ces deux branches mesurent respectivement 0,19-0,44 millimètre et 0,14-0,35 millimètre de long sur 0,32-0,46 millimètre de large.

Nous n'avons pas pu suivre les deux canaux efférents à cause de la ténuité de leurs parois. Nous avons trouvé seulement le canal déférent, assez grêle, placé sur la face dorsale de la branche descendante de l'utérus, qu'elle accompagne en commençant au niveau du vitellosac jusqu'au voisinage du bord postérieur du deuxième testicule; à cet endroit, le canal déférent se dilate brusquement pour former une vésicule séminale plus ou moins ovoïde ; celle-ci, dans la plus grande partie, dépasse le bord postérieur du dernier testicule et occupe une grande portion de

l'espace libre situé entre le testicule postérieur et la bourse copulatrice, en déplaçant à droite ou à gauche la portion terminale de la branche descendante de l'utérus. Le lumen de la vésicule séminale diminue ensuite et se plie vers la branche descendante de l'utérus, dans laquelle elle débouche par l'intermédiaire d'un canal éjaculateur extrêmement court, là où la branche de l'utérus fait son entrée dans la bourse copulatrice.

L'un des plus importants caractères de ce trématode est la conformation de la bourse copulatrice. Celle-ci est représentée par une cavité qui occupe l'extrémité postérieure du corps et du fond de laquelle se détache une cloche à parois lamelleuses et ondulées d'une façon très caractéristique (fig. 51). Sur les côtés latéraux de la cloche, il y a deux échancrures longitudinales, profondes, parallèles, qui séparent un lobe médian, dorsal, de forme quadrangulaire. Sur la face interne de ce lobe vient déboucher la branche descendante de l'utérus. Cette cloche peut être complètement renfermée à l'intérieur de la bourse ou faire plus ou moins saillie en dehors de cette bourse. C'est dans cette dernière situation que nous l'avons trouvée le plus fréquemment.

Les organes génitaux femelles se composent d'un ovaire de forme plus ou moins ellipsoïdale situé le plus souvent dans le plan médian du corps, au voisinage de la limite de ses deux portions, plus rapproché de la face dorsale que de la ventrale ; il mesure 0,061-0,147 millimètre dans le sens longitudinal et 0,137-0,176 millimètre dans le sens transversal du corps. L'oviducte est un canal très ondulé qui prend naissance à la limite de la face postérieure et de la face dorsale de l'ovaire, il monte d'abord un peu vers la face dorsale du corps, où il présente une dilatation, de laquelle se détache un canal de Laurer ondulé, qui débouche sur la face dorsale du corps au niveau de la face postérieure de l'ovaire. L'oviducte, ensuite, se dirige vers le côté gauche, où il reçoit le canal du vitellosac et se dilate en ootype ; celui-ci traverse la glande de Mehlis et descend un peu obliquement vers la face dorsale, jusqu'au voisinage de l'espace intertesticulaire. La branche ascendante de l'utérus se dirige vers l'axe du corps en passant au-dessus du vitellosac et monte, en accompagnant du côté dorsal la branche gauche de l'intestin, jusqu'au niveau de l'ovaire ; ici, la branche ascendante se recourbe vers la ligne médiane du corps et se continue ensuite avec la branche descendante de l'utérus. Celle-ci descend entre les branches du testicule postérieur, au voisinage de la face ventrale ; au niveau de la

vésicule séminale, l'utérus quitte la ligne médiane et se dirige de côté jusqu'à son débouchement dans la bourse copulatrice.

Les deux glandes vitellogènes sont représentées par deux bandes étroites qui, dans la portion antérieure du corps, montent un peu plus haut que la ventouse abdominale des deux côtés de la ligne médiane. Très fréquemment, elles s'arrêtent au même niveau. A la limite des deux portions du corps, les glandes vitellogènes s'unissent et descendent dans la portion postérieure, où elles forment une bande sur la face ventrale jusqu'au niveau du bord postérieur du deuxième testicule; à cet endroit se détachent deux bandelettes qui descendent obliquement sur les côtés latéraux du corps. Du bord antérieur de cette bande ventrale des glandes vitellogènes, prennent naissance deux bandelettes vitellogènes qui contournent de chaque côté la face latérale et la face dorsale du corps jusqu'au voisinage de l'ovaire. Au niveau de l'espace intertesticulaire, la bande ventrale des glandes vitellogènes envoie deux canalicules, qui passent du côté interne des branches intestinales pour déboucher dans le vitellosac. Sur des coupes transversales, le vitellosac a un contour triangulaire dont la base regarde vers la face ventrale.

Nous avons pu compter jusqu'à treize œufs dans l'utérus ; ils sont un peu ventrus, d'une coloration jaune claire, et mesurent 0,098-0,110 millimètre de long sur 0,074-0,079 millimètre de large.

Dans la portion antérieure du corps, nous avons bien observé les deux canaux excréteurs longitudinaux latéraux et le canal longitudinal médian. Dans la portion postérieure du corps, nous n'avons pas pu bien suivre les canaux excréteurs, même sur des coupes en série, à cause de l'effacement des parois de ces canaux produit par la compression des branches utérines remplies d'œufs qui s'exerce sur ces mêmes canaux. Il est pourtant bien probable que son système excréteur doit ressembler à celui des autres espèces de *Neodiplostomum.*

Si nous comparons maintenant la description et les figures que nous donnons avec la description et les figures 3 et 4 du travail de Scheuring et Eversbusch, qu'ils ont décrites comme des stades évolutifs de *Strigea cornu,* il ne reste aucun doute qu'il s'agit de la même espèce. Ainsi la conformation et la situation de l'ovaire des testicules, et spécialement de la bourse copulatrice chez notre trématode et chez celui de Scheuring et Eversbusch, sont absolument les mêmes. Il s'agit de savoir si ce trématode représente un stade évolutif de *Strigea cornu* ou non.

Evidemment non, parce que nous avons trouvé des exemplaires ovigères de *Neodiplostomum cuticola* qui mesuraient 1,21 millimètre de long, tandis que les exemplaires d'*Apharyngostrigea cornu,* malgré qu'ils étaient presque deux fois plus longs (2,21 milimètres) ne présentaient pas les glandes vitellogènes apparentes, c'est-à-dire n'étaient pas encore ovigères. Ensuite, parmi les nombreux exemplaires d'*Apharyngostrigea (Strigea) cornu* et du trématode mentionné, nous n'avons pas trouvé aucun exemplaire qui, par sa conformation, aurait pu être supposé comme un stade évolutif intermédiaire entre *Apharyngostrigea cornu* et le *Neodiplostomum* en question. Ces deux types de trématodes ont, de plus, des caractères morphologiques très différents. Szidat, de même, a été d'avis que *Displostomum cuticola v. Nordmann, 1832,* ne peut représenter la métacercaire d'*Apharyngostrigea cornu* à cause de la présence du pharynx, qui est absent chez *Apharyngostrigea cornu,* comme d'ailleurs nous l'avons montré pour la première fois dans une autre occasion.. Prettenhoffer, en nourrissant des chats avec des *Neascus cuticola,* a constaté que ce parasite ne reste que quarante-huit heures dans l'intestin de cet animal. D'après lui, la forme de ce ver ressemblant à celle d'un *Hemistomum,* il résulte qu'il ne peut représenter la métacercaire de *Strigea cornu.*

Amphitypie. — Parmi les seize exemplaires de *Neodiplostomum cuticola* que nous avons examinés *in toto,* nous avons trouvé chez neuf exemplaires le testicule antérieur du côté droit et conséquemment l'oviducte, l'ootype, la glande de Mehlis et la branche ascendante de l'utérus du côté gauche. Chez les autres sept, nous avons trouvé un *situs inversus* de ces organes.

Hôtes. — En contrôlant notre collection d'Helminthes, nous avons trouvé ce trématode comme hôte chez les Ardéidés suivants : le héron cendré *(Ardea cinerea),* le héron pourpré *(Ardea purpurea),* le bihoreau d'Europe *(Nycticorax nycticorax), Ardeola ralloides* et l'aigrette *(Egretta garzetta)*; chez ce dernier oiseau, nous avons trouvé seulement des exemplaires non ovigères.

Fréquence. — De douze hérons cendrés, onze ont été trouvés infestés; le plus grand nombre de parasites chez un seul oiseau fut de soixante-dix. De six hérons pourprés, quatre étaient infestés, le plus grand nombre de parasites trouvés chez un seul oiseau fut de cinquante; les dix bihoreaux que nous avons autopsiés ont été trouvés tous infestés; le plus grand nombre de vers fut de trente. Enfin, de quatre *Ardeola ralloides,* deux étaient infestés, chaque oiseau avec un seul exemplaire de *Neodiplostomum cuticola.*

Habitat. — Le plus grand nombre des exemplaires de *Neodiplostomum cuticola,* nous l'avons trouvé dans le tiers antérieur de l'intestin et très peu dans le tiers moyen et postérieur.

Distribution géographique. — Les Ardéidés infestées avec *Neodiplostomum cuticola* provenaient de la région danubienne, des environs des étangs suivants : Baneasa (dép. Vlașca), Prundu et Greaca (dép. Ilfov), Feteşti (dép. Ialomița), Somova, Zagăn et Rossetti (dép. Tulcea). Les oiseaux ont été chassés pendant les années 1912-1913 et 1927-1930.

Ardéidés qui n'ont pas été trouvées infestées. — Le butor étoilé *(Botaurus stelaris),* un seul exemplaire examiné, et le blongion nain *(Ardetta minuta),* trois exemplaires.

LES EXEMPLAIRES NON OVIGÈRES

Dans l'intestin des Ardéidés que nous avons mentionnées plus haut, à côté des exemplaires ovigères, nous avons trouvé des exemplaires non ovigères également. Ils mesurent 0,58-1,25 millimètres de long (dont 0,39-0,92 millimètres pour la portion antérieure et 0,19-0,33 millimètre pour la portion postérieure) sur 0,33-0,45 millimètre de large pour la première portion et 0,13-0,24 millimètre pour la deuxième. La ventouse buccale mesure 0,048-0,057 millimètre de long sur 0,046-0,063 millimètre de large; le pharynx, 0,039-0,057 millimètre de long sur 0,026-0,033 millimètre de large; la ventouse abdominale est légèrement plus grande (0,044-0,068 millimètre de long sur 0,057-0,061 millimètre de large) que la buccale; l'appareil de fixation ovoïdal mesure 0,099-0,132 millimètre de long sur 0,081-0,121 millimètre de large. Chez les exemplaires colorés *in toto,* on peut mieux voir le complexe glandulaire de l'appareil de fixation que chez les formes ovigères. Ainsi, immédiatement en arrière de cet appareil, on observe une glande allongée transversalement, ayant plus ou moins la forme d'un nœud de cravate, colorée en rose foncé. De même, on peut voir chez ces exemplaires que les deux couches glandulaires situées dans l'épaisseur de l'appareil de fixation ont des lobules à leur périphérie. Ces lobules sont placés d'une manière radiée, comme les pétales d'une marguerite.

En ce qui concerne les glandes génitales, on voit les deux testicules situés l'un après l'autre dans la portion postérieure du corps. Ils ont la forme d'un *V* majuscule, avec les branches dirigées en avant et s'orientant obliquement de la face dorsale du corps vers la ventrale. L'une des branches du testicule antérieur

est toujours plus grêle que l'autre et d'autant plus que les individus appartiennent à des stades plus avancés. La branche du testicule postérieur qui correspond à la branche plus grêle du testicule antérieur est un peu plus longue. Le testicule antérieur mesure 0,50-0,74 millimètre dans le sens longitudinal, 0,090-0,204 millimètre dans le sens transversal, le postérieur est plus grand, 0,061-0,132 millimètre dans le sens longitudinal et 0,099-0,220 millimètre dans le sens transversal. L'ovaire est globuleux chez les individus plus jeunes et ellipsoïdal dans le sens transversal chez ceux plus âgés; il est situé entre les branches du testicule antérieur, dans le plan médian ou un peu latéralement; il mesure 0,033-0,055 millimètre dans le sens longitudinal et 0,033-0,088 millimètre dans le sens transversal. La bourse copulatrice mesure 0,055-0,11 millimètre de long sur 0,088-0,121 millimètre de large.

Ces exemplaires non ovigères ressemblent à celui figuré par Scheuring et Eversbusch (fig. 1) comme représentant une larve de *Strigea cornu* de l'intestin du héron. Nous devons signaler ici que les formations glandulaires désignées par ces auteurs par la lettre *T* comme représentant les deux testicules, ne représentent que l'ébauche du testicule postérieur, et les formations désignées par les lettres *Do* comme représentant les ébauches des glandes vitellogènes ne sont que l'ébauche du testicule antérieur. Nous devons signaler en plus que, dans le travail de Scheuring et Eversbusch, il y a une inversion des figures 1 et 2, à savoir : la figure 1 doit représenter « Jüngstes Stadium der *Strigea* larve aus dem Reiherdarm », et la figure 2 « *Dipl. cuticola Rud.* aus der Haut von *Leuciscus rutilus* ».

LA MÉTACERCAIRE

Nous basant sur des recherches morphologiques et biologiques, nous pouvons affirmer que *Neascus cuticola* (v. Nordmann) représente la métacercaire de *Neodiplostomum cuticola mihi.* En vérité, nous avons trouvé dans l'intestin de quelques hérons et de quelques bihoreaux différents stades évolutifs, dont les plus jeunes ressemblaient presque exactement à des *Neascus cuticola* peu évolués ; de plus, par des recherches expérimentales, en nourrissant des Ardéidés avec des *Neascus cuticola,* nous avons réussi à reproduire les stades évolutifs de ce trématode jusqu'au stade ovigère.

En ce qui concerne les caractères morphologiques de cette méta-

cercaire et les espèces de poissons du Danube qui lui servent d'hôtes intermédiaires, nous pouvons mentionner ce que suit : dans les infestations massives, on observe dans la peau, dans les nageoires, dans la muqueuse buccale, dans la cornée et dans les couches superficielles de la musculature du corps de nombreuses taches noires, arrondies ou allongées, avec le contour irrégulier, mesurant 0,85-3,80 millimètres de long sur 0,75-2,31 millimètres de large. Au milieu de chaque tache, il y a un kyste ovale ou sphérique mesurant 0,69-0,99 millimètre de diamètre, pigmenté seulement à la périphérie ou complètement couvert par le pigment selon l'âge de ces formations. La paroi externe du kyste est un peu fibreuse (0,39 millimètre d'épaisseur), tandis que la paroi interne est hyaline et plus fine (0,011 millimètre d'épaisseur). A l'intérieur du kyste, on peut voir la métacercaire repliée le plus souvent vers le milieu de sa longueur et sur la face ventrale. La métacercaire libre dans une goutte d'eau se meut plus ou moins vivement et mesure 0,73-1,43 millimètre de long, et quand elle s'allonge elle atteint 1,98 millimètre. Le corps, comme chez toutes les métacercaires du type *Neascus,* est divisé en deux portions ; une antérieure, lamelleuse (environ 0,14 millimètre d'épaisseur), excavée en cuillère sur la face ventrale, avec un contour irrégulier ovalaire, mesurant 0,61-0,82 millimètre de long sur 0,39-0,66 millimètre de large ; l'autre postérieure, cylindrique, environ deux fois plus courte que celle antérieure, 0,29-0,42 millimètre de long sur 0,29-0,49 millimètre de large.

Sur la portion antérieure du corps, on observe à un examen minutieux de très petites écailles, qu'on peut constater jusqu'au niveau de la ventouse abdominale. Ces écailles cuticulaires n'ont pas été mentionnées jusqu'à présent par aucun des auteurs qui se sont occupés de cette métacercaire. A l'extrémité antérieure existe la ventouse buccale ; sur la face ventrale, au milieu de la longueur du corps, on trouve la ventouse abdominale un peu plus grande que la buccale ; un peu en arrière de la ventouse abdominale est situé l'appareil fixateur d'une forme plus ou moins ellipsoïdale. Quant au tube digestif, on voit que la ventouse buccale se prolonge par un petit prépharynx qui, à son tour, se continue avec le pharynx. L'œsophage, très court, se bifurque en deux branches légèrement divergentes, descendant d'une manière ondulée jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure du corps.

Dans la portion antérieure, on distingue un canal excréteur longitudinal médian et deux canaux excréteurs latéraux; dans la portion postérieure, il est très difficile de distinguer les canaux

excréteurs, à cause des volumineuses portions terminales des branches intestinales qui masquent les ébauches des autres organes situés dans cette portion du corps. Dans le réseau excréteur, on observe de nombreux corpuscules sphériques réfringents, mesurant 0,004-0,013 millimètre de diamètre, qui, d'après les recherches de M^lle^ Damboviceanu sont formés par du carbonate de chaux. Nous sommes d'accord avec Scheuring et Eversbusch que *Neascus cuticola* enkysté conserve sa vitalité plusieurs jours après la mort des poissons. Nous avons trouvé des exemplaires vivants même dans la musculature des poissons déjà en putréfaction. La métacercaire libre dans l'eau physiologique peut vivre seulement quelques heures.

Les métacercaires que nous avons fixées dans de l'alcool, colorées ensuite avec du carmin aluné, mesuraient 1,08-1,38 millimètres de long (dont 0,72-1,05 millimètre pour la portion antérieure et 0,33-0,42 millimètre pour celle postérieure) sur 0,52-0,56 millimètre de large dans la portion antérieure et 0,26-0,33 millimètre dans la postérieure. Sur la face ventrale de la première portion du corps, on observe la ventouse buccale mesurant 0,063-0,077 millimètre de long sur 0,055-0,061 millimètre de large ; la ventouse abdominale est un peu plus grande (0,068-0,077 millimètre de diamètre) que la buccale. Le siège de la ventouse abdominale varie avec l'état de contraction du parasite. Chez les individus allongés complètement, elle est située au milieu du corps. Chez ceux dont la portion antérieure est plus allongée, la ventouse se trouve légèrement en arrière du milieu du corps. Il est à remarquer que, bien que Scheuring et Eversbusch affirment que la ventouse abdominale est d'une taille presque double que celle de la buccale, il résulte du tableau des dimensions qu'ils donnent que la ventouse abdominale est à peine un peu plus grande que la buccale. A une distance de 0,044-0,066 millimètre de la ventouse abdominale on trouve l'appareil de fixation de forme ovoïdale ou sphérique, 0,12-0,14 millimètre de diamètre, dont la moitié postérieure est assez souvent cachée par le repli membraneux résulté de l'union des bords latéraux du corps.

Immédiatement en arrière de l'appareil de fixation et vers la partie dorsale, on trouve une petite glande allongée transversalement, de la forme d'un nœud de cravate, qui se colore en rose foncé. Dans l'épaisseur de l'appareil de fixation, il y a deux couches de cellules glandulaires : une plus centrale qui se colore en rose foncé et une autre périphérique qui se colore en rose pâle ; toutes les deux ont un contour lobulé. Sur des coupes en

série colorées par la méthode de Dominici, on peut voir que les cellules de la glande située derrière l'appareil de fixation, possèdent de petits noyaux ovalaires, colorés en bleu foncé. Les cellules de la couche glandulaire plus profonde possèdent aussi des noyaux arrondis ou légèrement ovalaires, qui se colorent en bleu foncé. Les cellules de la couche plus périphérique possèdent des noyaux plus grands, sphériques ou un peu ovalaires, qui se colorent en bleu pâle. Ce complexus glandulaire de l'appareil de fixation du *Neascus cuticola,* assez caractéristique pour cette métacercaire, n'a pas été décrit jusqu'à présent. Scheuring et Eversbusch, dans leur travail sur *Strigea cornu,* ont figuré incomplètement, autour de l'appareil de fixation, des cellules ayant une apparence glandulaire, sans faire aucune mention dans le texte. Hughes également a figuré cette glande sur une coupe transversale au niveau de l'appareil de fixation, mais sans faire aucune mention de la structure histologique.

En ce qui concerne le tube digestif, on voit que la ventouse buccale se continue par un prépharynx très court (0,022 millimètre), et un pharynx ellipsoïdal mesurant 0,55-0,061 millimètre de long sur 0,030-0,037 millimètre de large ; l'œsophage est très court (0,022-0,055 millimètre). Les branches intestinales descendent en augmentant de volume jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure du corps ; elles contiennent une substance qui, sur les coupes colorées par la méthode de Dominici, prend une coloration jaune orangé.

Dans la portion postérieure du corps, on observe les ébauches des testicules, relativement grands, ce qu'indique une évolution rapide du parasite ; on observe de même l'ovaire et la bourse copulatrice. L'ébauche du testicule antérieur a plus ou moins la forme d'un fer à cheval. L'organe est situé dans le tiers antérieur de cette portion du corps, un peu plus rapproché de l'une des deux parties latérales du corps avec la concavité regardant vers la face ventrale. Il mesure 0,063-0,081 millimètre dans le sens longitudinal et 0,12-0,16 millimètre dans le sens transversal. Le testicule postérieur, plus grand (0,12-0,17 millimètre dans le sens longitudinal et 0,15-0,19 millimètre dans le sens transversal) que le testicule antérieur, se trouve dans le tiers moyen de la portion postérieure du corps ; il a aussi la forme d'un fer à cheval dont les branches montent obliquement vers la face ventrale. L'ébauche de l'ovaire est sphérique ou légèrement ellipsoïdale, il est situé avant le testicule antérieur, dans le plan médian, mesurant 0,039-0,077 millimètre de diamètre. L'organe

est difficile à observer parce que, dans les préparations totales, colorées par le carmin aluné, il prend une coloration rose pâle. La bourse copulatrice se trouve à peu de distance de l'extrémité postérieure, elle s'ouvre par une petite fente, située sur la face dorsale. Nous croyons devoir mentionner que l'interprétation donnée par Scheuring et Eversbusch sur les ébauches génitales de cette métacercaire est erronée, à savoir : dans la figure 2, qui représente la métacercaire de *Neodiplostomum cuticola*, les formations que ces auteurs ont désignées par les lettres *MA* comme représentant les ébauches des deux testicules ne représentent que l'ébauche du testicule postérieur, et les formations désignées par *WA* comme représentant les ébauches des glandes génitales femelles ne sont que l'ébauche du testicule antérieur. Ces auteurs n'ont pas pu identifier l'ébauche de l'ovaire.

Nous devons mentionner encore que la métacercaire trouvée par Dubois chez *Blicca björkna*, en Suisse, et décrite comme *Hemistomum sp.*, n'est qu'un *Neascus cuticola*; notre opinion est basée sur la description du parasite et surtout sur les figures (pl. IX, fig. 57, 58 et 59) données par cet auteur.

D'après nos recherches, les hôtes intermédiaires de *Neascus cuticola* sont représentés par les espèces suivantes de poissons des étangs de la région danubienne: *Scardinius erythrophthalmus*, *Blicca björkna*, *Cyprinus carpio*, *Idus idus*, *Chondrostoma nasus*, *Cobitis taenia* et *Pelecus cultratus*. Les deux premières espèces doivent être considérées comme les hôtes de prédilection de *Neascus cuticola*.

Un fait intéressant est qu'assez souvent nous avons trouvé des exemplaires de *Scardinius erythrophthalmus* et de *Blicca björkna* infestés à la fois avec des *Neascus cuticola* et avec des métacercaires d'*Apophallus Mühlingi*. Il est assez facile de déterminer ces deux espèces de métacercaires enkystées d'après leur aspect macroscopique. *Neascus cuticola* se présente sous la forme de taches noires assez grandes, tandis que *Apophallus Mühlingi* se présente sous la forme de petits points noirâtres.

Nous avons décrit également, en dehors des métacercaires de *Neodiplostomum cuticola* et d'*Apophallus Mühlingi*, la métacercaire de *Rossicotrema donicum*, qui possède une pigmentation noire autour des kystes. Pour faciliter le diagnostic différentiel, nous avons donné dans ce travail la reproduction de l'aspect d'un poisson *(Lucioperca volgensis)* infesté par cette dernière métacercaire.

Recherches expérimentales sur l'évolution du Neascus cuticola

vers le stade ovigère. — Nous avons nourri pendant l'automne de l'année 1929 une *Egretta garzetta,* une *Ardea purpurea* et un *Nycticorax nycticorax* avec des *Neascus cuticola,* et nous avons sacrifié ces oiseaux un, deux et trois jours et demi après l'infestation, pour obtenir des exemplaires de *Neodiplostomum cuticola* dans ses différents stades évolutifs.

Neodiplostomum cuticola vingt-quatre heures après l'infestation. — Une jeune *Egretta garzetta* a mangé une fois quatre-vingts *Neascus cuticola.* Sacrifiée vingt-quatre heures après, nous avons trouvé vingt et un exemplaires très petits, non ovigères, de *Neodiplostomum cutilota,* dont dix-huit dans le tiers antérieur et trois dans le tiers moyen de l'intestin. Ces exemplaires ressemblent assez bien au *Neascus cuticola,* ils mesurent 0,95-1,32 millimètre de long (0,62-0,99 millimètre pour la portion antérieure et 0,33-0,36 millimètre pour celle postérieure) sur 0,30-0,52 millimètre de large pour la première et 0,11-0,19 millimètre pour la dernière portion du corps. Les ventouses, l'appareil de fixation et les ébauches des glandes génitales ont presque les mêmes dimensions que celles des métacercaires.

Neodiplostomum cuticola deux jours après l'infestation. — Nous avons nourri une fois un jeune *Nycticorax nycticorax* avec soixante *Neascus cuticola*; deux jours après, nous l'avons sacrifié. A l'autopsie, nous avons trouvé trente et un exemplaires de *Neodiplostomum cuticola,* dont trente dans le tiers antérieur et un dans le moyen. Parmi ces exemplaires, quelques-uns ressemblaient à ceux âgés de vingt-quatre heures (1); les autres étaient déjà ovigères, mesurant 1,02-1,32 millimètre de long (dont 0,59-0,79 millimètre pour la portion antérieure et 0,46-0,52 millimètre pour la portion postérieure) sur 0,49 millimètre de large pour la première portion et 0,23 millimètre pour la dernière. De cette expérience, il résulte que *Neodiplostomum cuticola* deux jours après l'infestation devient ovigère. Ces exemplaires diffèrent de ceux âgés de vingt-quatre heures spécialement par la portion postérieure du corps, qui est plus longue et plus large que dans le stade précédent; les testicules et l'ovaire sont également plus grands et en complet état de fonctionnement. Le testicule antérieur mesure environ 0,099 millimètre dans le sens longitudinal et 0,12 millimètre dans le sens transversal; le testicule

(1) La présence des exemplaires non ovigères parmi les ovigères s'explique en ce que, parmi les métacercaires avec lesquelles nous avons expérimenté, il y en avaient qui n'étaient pas complètement développées, par conséquent incapables d'une évolution vers le stade ovigère.

postérieur, 0,22 millimètre dans le sens longitudinal et 0,23 millimètre dans celui transversal; l'ovaire, 0,077 millimètre de long sur 0,088 millimètre de large. Nous avons observé un seul œuf dans l'utérus.

Neodiplostomum cuticola trois jours et demi après l'infestation. — Une jeune *Ardea purpurea a mangé* une fois cinquante-neuf *Neascus cuticola;* trois jours et demi après, nous avons trouvé à l'autopsie, dans le tiers antérieur de l'intestin, trente-deux exemplaires de *Neodiplostomum cuticola,* dont le plus grand nombre étaient non ovigères et ressemblaient à ceux âgés de vingt-quatre heures et seulement trois étaient ovigères. Ces derniers exemplaires diffèrent de ceux des stades précédents par la portion postérieure du corps qui est un peu plus large, environ 0,25 millimètre; les organes génitaux sont relativement plus volumineux et ils contiennent un plus grand nombre d'œufs dans l'utérus; nous avons pu compter jusqu'à cinq œufs.

OISEAUX CHEZ LESQUELS « NEODIPLOSTOMUM CUTICOLA » NE PEUT PAS ÉVOLUER JUSQU'AU STADE OVIGÈRE

Platalea leucorodia L. — Nous avons donné pendant seize jours (13-29 août 1928) à une jeune spatule 872 *Neascus cuticola.* A l'autopsie, nous avons trouvé dans l'intestin antérieur dix-sept exemplaires non ovigères de *Neodiplostomum cuticola* mesurant 0,92-1,05 millimètre de long (dont 0,66-0,72 millimètre pour la portion antérieure et 0,26 millimètre pour celle postérieure) sur 0,39-0,46 millimètre de large pour la première portion du corps et 0,19-0,26 millimètre pour la dernière. D'après leur conformation, ces parasites ressemblaient à ceux âgés de vingt-quatre heures.

Egretta garzetta (première expérience). — En 1927, nous avons donné à manger chaque jour, du 4 septembre au 9 octobre, à une jeune *Egretta garzetta,* un grand nombre de *Neascus cuticola.* En sacrifiant l'oiseau, nous avons recueilli dans son intestin trente-sept *Neodiplostomum cuticola* non ovigères, dont vingt-neuf dans le tiers antérieur, sept dans le tiers moyen et seulement un dans le tiers postérieur. Le plus grand exemplaire mesurait 0,79 millimètre de long (0,52 millimètre pour la portion antérieure et 0,19 millimètre pour la postérieure) sur 0,42 millimètre de large pour la première portion et 0,19 millimètre pour la dernière. Par son organisation, il ressemblait à un *Neodiplostomum* âgé de vingt-quatre heures.

Deuxième expérience. — Dans l'automne de 1929, nous avons nourri une fois deux jeunes *Egretta garzetta* de la même nichée avec 60 à 80 exemplaires de *Neascus cuticola*. Un de ces oiseaux a été sacrifié vingt-quatre heures, l'autre sept jours après l'infestation. A l'autopsie, nous avons trouvé chez le premier oiseau quatre-vingts exemplaires de *Neodiplostomum cuticola* âgés de vingt-quatre heures, tandis que chez le deuxième oiseau nous n'avons trouvé aucun *Neodiplostomum* dans l'intestin.

Il résulte de ces expériences que, chez *Egretta garzetta, Neodiplostomum cuticola* ne peut pas évoluer jusqu'au stade ovigère.

OISEAUX QUI N'ONT PAS PU ÊTRE INFESTÉS AVEC « NEODIPLOSTOMUM CUTICOLA »

Ciconia ciconia L. (première expérience). — Une jeune cigogne blanche a avalé, le 19 et le 21 juin 1928, cent cinquante-six *Neascus cuticola*. Nous avons sacrifié cette cigogne le 22 juin et nous n'avons pas trouvé des Neodiplostomes dans son intestin.

Deuxième expérience. — Une autre cigogne blanche a mangé dans un mois (4 juillet-4 août 1928) 2225 *Neascus cuticola*. A l'autopsie, nous n'avons également pas trouvé de *Neodiplostomum* dans l'intestin.

De ces expériences, il résulte que la cicogne blanche ne peut pas être infestée par ce trématode.

Botaurus stelaris. — Un butor étoilé a été nourri chaque jour, durant une période de huit jours pendant le mois d'octobre 1928, avec un grand nombre d'exemplaires de *Neascus cuticola*. A sa mort, nous n'avons pas pu trouver aucun *Neodiplostomum cuticola* dans l'intestin.

3° *Neodiplostomum perlatum, Ciurea, 1929.*

Dans une publication antérieure, nous avons décrit l'état adulte de ce trématode, la métacercaire, et son évolution jusqu'au stade ovigère. Nous désirons apporter maintenant certaines indications relatives à la nature chimique des corpuscules circulant dans les canalicules du système excréteur de la métacercaire et à la constitution de la glande de l'appareil de fixation de ce trématode.

D'après nos recherches, les corpuscules sphériques, mesurant 0,011-0,013 millimètre de diamètre, qui se trouvent à l'intérieur des canalicules du système excréteur sont constitués par du carbonate de chaux.

En ce qui concerne la glande de l'appareil de fixation chez le trématode adulte, on voit sur des coupes en série colorées par hémalun-éosine qu'elle est représentée par une formation lobulée, située du côté dorsal au niveau de la moitié postérieure de l'appareil de fixation. Elle se compose de cellules avec des petits noyaux ovalaires, qui se colorent en bleu foncé. Dans l'épaisseur de l'appareil de fixation, on trouve aussi plusieurs cellules glandulaires, espacées, dont les noyaux plus grands sont sphériques et se colorent en bleu pâle. Chez *Neascus perlatus,* la glande de l'appareil de fixation est également représentée par une formation plus ou moins ellipsoïdale composée de plusieurs lobules, située du côté dorsal, au niveau de la moitié postérieure de l'appareil de fixation. Elle est constituée par des cellules, dont les noyaux plus petits, ovalaires, serrés se colorent en bleu foncé. Dans l'épaisseur de l'appareil de fixation, on trouve des cellules glandulaires avec des noyaux plus grands, sphériques, qui se colorent en bleu pâle.

4° *Proalaria trilobum (Rud.) La Rue, 1926.* *(Distoma trilobum Rud., 1819,* *Hemistomum trilobum Dies, 1850.)*

Rudolphi a décrit en 1819, sous le nom de *Distoma trilobum*, un trématode recueilli par Bremser dans l'intestin du cormoran ordinaire *(Phalacrocorax carbo L.)*. Rudolphi, Nitzsch et Diesing ont donné les résultats de leurs mensurations et la description de la forme du corps de ce trématode. Nitzsch le rangea parmi les Holostomes et Diesing parmi les Hémistomes. Ce dernier a confondu la fente de l'appareil de fixation avec l'ouverture du canal éjaculateur. C'est Wedl qui s'est surtout occupé de la conformation des organes internes. Celui-ci a cru voir la vésicule séminale dans l'axe longitudinal du corps et les deux testicules sur les côtés latéraux de la portion postérieure du corps. La description des glandes vitellogènes donnée par cet auteur est relativement exacte; d'après lui, ces glandes bordent la ventouse abdominale de la forme d'une fente (en réalité, l'appareil de fixation) et les deux testicules, jusqu'à l'extrémité postérieure du corps. De même, il a mentionné que les organes génitaux débouchent à l'extrémité postérieure et que les œufs mesurent 0,081 millimètre de long sur 0,057 millimètre de large.

Parmi les auteurs plus récents, Brandes a décrit, sous le nom de *Hemistomum trilobum*, un trématode trouvé par Kollar en

1858, dans l'intestin du *Pelecanus crispus*. Ce trématode, d'après Krause, représenterait une espèce tout à fait différente qui devrait être identifiée avec son *Hemistomum confusum* du *Pelecanus onocrotalus*. Krause, dans sa monographie *Beitrag zur Kenntniss des Hemistominen*, n'a pu donner des renseignements précis sur *Hemistomum trilobum*, car les quatre exemplaires originaux de *Distoma trilobum* de Rudolfi, qu'il a examinés dans la collection du Musée de Berlin, étaient noirs, opaques, et ne se prêtaient pas à l'étude des organes internes.

Pendant les deux dernières années, nous avons eu l'occasion d'autopsier vingt et un cormorans de la région danubienne, dont quatorze appartenaient à l'espèce *Phalacrocorax carbo* et sept à *Phalacrocorax pygmeus*. Parmi les premiers, nous en avons trouvé infestés avec *Proalaria trilobum* onze, et parmi les derniers cinq seulement.

Nous possédons des exemplaires de *Proalaria trilobum* ovigères et non ovigères.

LES EXEMPLAIRES OVIGÈRES

Nos exemplaires ovigères de *Proalaria trilobum* mesurent 0,78-1,91 millimètre de long, leur corps est partagé par un léger étranglement en deux portions : une antérieure, ovale fortement excavée sur la face ventrale, spécialement chez les exemplaires plus contractés, mesurant 0,39-0,69 millimètre de longueur sur 0,39-1,05 millimètre de largeur, et l'autre postérieure cylindro-conique, égale ou un peu plus longue que l'antérieure (selon l'âge des individus), mesurant 0,39-1,21 millimètre de long sur 0,34-0,62 millimètre de large (1). Ces deux portions du corps, qui sont en continuation, donnent à l'animal assez souvent un contour plus ou moins piriforme. Le bord antérieur de la première portion du corps est divisé en trois lobes : un médian et deux latéraux. Le lobe médian est occupé par une ventouse buccale sphérique, 0,077-0,130 millimètre de diamètre. Entre le lobe médian et les lobes latéraux, on trouve les deux pseudo-ventouses céphaliques, semi-lunaires (0,055-0,17 millimètre de diamètre). Au fond de l'excavation de la première portion du corps, à une distance de 0,098-0,118 millimètre de l'extrémité antérieure, c'est-à-dire avant le milieu de cette portion, on trouve une ventouse abdominale plus grande

(1) Krause a décrit ce trématode comme ayant la portion antérieure du corps plus longue que la postérieure parce qu'il avait examiné seulement des exemplaires relativement jeunes, mesurant 0,78-0,84 millimètre de long.

(0,111-0,167 millimètre de diamètre) que la buccale. Immédiatement en arrière de la ventouse abdominale commence un appareil de fixation qui se continue jusqu'à la limite des deux portions du corps. Il a une forme sphérique ou ellipsoïdale (selon l'état de contraction) et mesure 0,22-0,34 millimètre de long sur 0,17-0,38 millimètre de large. Quand l'appareil de fixation est projeté en avant, il recouvre la ventouse abdominale et peut atteindre même la ventouse buccale; quand il est contracté, il occupe le fond de l'excavation. Sur la face dorsale et en commençant au niveau de la moitié postérieure de l'appareil de fixation et jusqu'à la limite des deux portions du corps, on trouve la glande volumineuse de l'appareil de fixation. Celle-ci, d'une forme plus ou moins semi-lunaire, chez les exemplaires ayant l'appareil de fixation contracté, et ovoïdale chez ceux avec l'appareil de fixation fortement projeté en avant, est échancrée sur la ligne médiane dans sa moitié antérieure, de manière à former deux lobes latéraux. Elle mesure 0,15-0,30 millimètre dans le sens longitudinal et 0,21-0-27 millimètre dans le sens transversal. Sur des coupes en série colorées par hémalun-éosine, on voit que la glande de l'appareil de fixation est lobulée et se compose de cellules pourvues de noyaux petits, arrondis ou légèrement ovalaires, qui se colorent en bleu foncé. Dans toute l'épaisseur de l'appareil de fixation, on trouve également plusieurs cellules glandulaires avec des gros noyaux sphériques ou un peu ovalaires qui se colorent en bleu pâle. Evidemment, ces noyaux proviennent non seulement des cellules glandulaires situées dans l'épaisseur de l'appareil de fixation de la métacercaire, mais aussi des cellules qui sont dans la zone antérieure de la glande de l'appareil de fixation.

En ce qui concerne le tube digestif de ce parasite, on voit que la ventouse buccale se prolonge avec un pharynx ellipsoïdal mesurant 0,055-0,088 millimètre de long sur 0,037-0,057 millimètre de large. Celui-ci se continue par un très court œsophage (0,033-0,066 millimètre environ), qui se bifurque en deux branches intestinales divergentes qui contournent les côtés latéraux de l'appareil de fixation et descendent dans la portion postérieure du corps, en se rapprochant l'une de l'autre jusqu'au niveau de la bourse copulatrice.

Les organes génitaux mâles consistent dans deux testicules situés dans la moitié antérieure de la portion postérieure du corps. Ils ne se trouvent pas sur les côtés latéraux, comme croyait Wedl, mais ils sont situés l'un derrière l'autre. Le testicule antérieur, qui est le plus petit, occupe seulement l'une des moitiés latérales

du corps (le plus souvent la moitié droite), tandis que le testicule postérieur s'étend transversalement dans toute la largeur du corps. Le testicule antérieur a la forme d'un fer à cheval qui chevauche du côté droit ou gauche (selon les individus) les organes internes du corps. Il mesure 0,12-0,29 millimètre dans le sens longitudinal et 0,12-0,23 millimètre dans le sens transversal. Le testicule postérieur a également la forme d'un fer à cheval dont la concavité regarde vers la face ventrale; il mesure 0,08-0,24 millimètre dans le sens longitudinal et 0,28-0,49 millimètre dans le sens transversal.

Le canal efférent du testicule antérieur prend naissance du côté interne, au voisinage de la face postérieure, à une distance égale des deux extrémités de ce testicule. Le canal efférent du testicule postérieur prend son origine dans la concavité (c'est-à-dire sur la face ventrale), au voisinage de la face antérieure et un peu à gauche. Les deux canaux efférents descendent dans l'espace intertesticulaire, ils s'unissent au-dessous du niveau du vitellosac pour former le canal déférent. Celui-ci longe la face dorsale de la branche descendante de l'utérus jusqu'au niveau de la face postérieure du deuxième testicule. A cet endroit, il se continue par une vésicule séminale un peu sinueuse qui se place au-dessous du testicule postérieur. La vésicule séminale se prolonge par un canal éjaculateur qui débouche sur la face dorsale de la branche descendante de l'utérus à peu de distance de la bourse copulatrice. Celle-ci occupe l'extrémité postérieure du corps et s'ouvre sur la face dorsale, à une distance d'environ 0,10 millimètre de l'extrémité terminale.

Les organes génitaux femelles se composent d'un ovaire ellipsoïdal un peu aplati sur la face antérieure, situé immédiatement en arrière de la glande de l'appareil de fixation dans le plan médian ou un peu latéralement; la moitié latérale droite de sa face postérieure se repose sur la face antérieure du premier testicule (en supposant que le testicule antérieur se trouve du côté droit). Il mesure 0,04-0,12 millimètre dans le sens longitudinal et 0,10-0,24 millimètre dans le sens transversal. Dans le plan médian, au voisinage de la face postérieure et de la face dorsale de l'ovaire prend origine l'oviducte. Celui-ci, après un court trajet à gauche et en bas, se dilate pour former le réceptacle séminal, qui donne naissance à un canal de Laurer débouchant sur la face dorsale du corps au niveau du testicule antérieur. L'oviducte, ensuite, reçoit le canal du vitellosac, se dirige vers l'espace resté libre du côté gauche du corps et se dilate de nouveau pour cons-

tituer l'ootype, qui traverse la glande de Mehlis, située du côté gauche, au niveau de l'espace intertesticulaire. La branche ascendante de l'utérus est sinueuse, elle monte sur le dos de la branche intestinale gauche jusqu'à la limite des deux portions du corps, où elle se recourbe vers la face ventrale, et descend dans le plan médian, sous la couche des glandes vitellogènes, jusqu'à son débouchement dans la bourse copulatrice.

Les deux glandes vitellogènes qui se trouvent dans la portion antérieure du corps commencent avant le niveau de la ventouse abdominale et descendent sur les côtés latéraux jusqu'à la limite des deux portions du corps. Ici, elles s'unissent et forment une bande médiane ventrale qui descend jusqu'au niveau du bord postérieur du deuxième testicule, puis elles passent des deux côtés du corps jusqu'à une petite distance de l'extrémité postérieure. Le vitellosac ovoïdal est situé du côté interne de l'ootype. Au niveau de l'espace intertesticulaire, il reçoit les deux vitelloductes qui prennent naissance dans la bande ventrale des glandes vitellogènes de la portion postérieure.

Les œufs sont en petit nombre; nous avons pu en compter jusqu'à trois: ils mesurent 0,097-0,099 millimètre de long sur 0,055-0,62 millimètre de large

Le système excréteur est représenté par un réseau excréteur sous-cutané très bien développé. Dans la portion antérieure du corps, nous n'avons pas réussi à suivre assez distinctement les canaux excréteurs longitudinaux, même sur des coupes en série. Dans la portion postérieure, on peut voir les deux canaux excréteurs longitudinaux sur les côtés latéraux de l'utérus qui, à une petite distance de l'extrémité postérieure, s'unissent pour déboucher dans le pore excréteur situé sur la face dorsale du corps.

Amphytypies. — Parmi seize exemplaires de *Proalaria trilobum* que nous avons examinés *in toto*, nous avons trouvé chez dix exemplaires le testicule antérieur du côté droit et conséquemment l'oviducte, l'ootype, la glande de Mehlis et la branche ascendante de l'utérus du côté gauche. Chez six autres, nous avons observé un *situs inversus* de ses organes.

Fréquence. — Le plus grand nombre d'exemplaires de *Proalaria trilobum* que nous avons trouvé chez *Phalacrocorax carbo* fut de cent trente-six.

Habitat. — Nous avons trouvé ce parasite disséminé dans toute la longueur de l'intestin, mais spécialement dans le tiers antérieur.

Distribution géographique. — Les cormorans infestés par *Proalaria trilobum* provenaient des départements : Vlașca (Băneasa),

Ilfov (Prundu et Greaca), Ialomita (Vlădeni), Covurlui (Brates) et Brăila (Serbanu); les plus infestés étaient les cormorans du département Vlașca. Il semble que l'intensité de l'infestation diminue au fur et à mesure que l'on descend vers le delta du Danube. Nous n'avons jamais trouvé ce parasite chez les cormorans des départements Tulcea (Somova et Jurilofca) et Ismaïl (Vâlcov).

LES EXEMPLAIRES NON OVIGÈRES

Nous avons trouvé chez un de nos cormorans, parmi les exemplaires ovigères, plusieurs exemplaires non ovigères de ce même parasite. Ceux-ci mesuraient 0,55-0,77 millimètre de long (dont 0,39-0,47 millimètre pour la portion antérieure et 0,19-0,33 millimètre pour la portion postérieure) sur 0,42-0,54 millimètre de large dans la première et 0,25-0,34 millimètre dans la dernière portion du corps. La portion antérieure, bien excavée sur la face ventrale, présente la ventouse buccale de 0,074-0,088 millimètre de diamètre ; les deux pseudo-ventouses céphaliques ont 0,088 millimètre de diamètre environ ; la ventouse abdominale est plus grande (0,094-0,21 millimètre de diamètre) que la buccale ; l'appareil de fixation, mesurant 0,17-0,21 millimètre de long sur 0,17-0,25 millimètre de large, suit immédiatement la ventouse abdominale; à l'état de propulsion, il recouvre non seulement la ventouse abdominale, mais aussi une partie de la ventouse buccale. La glande de l'appareil de fixation a la même forme que celle décrite chez les exemplaires ovigères. Chez les exemplaires colorés *in toto* par le carmin aluné, on peut distinguer trois zones successives : une antérieure, une autre moyenne et la dernière postérieure. La première et la troisième se colorent en rose pâle, tandis que l'intermédiaire se colore en rose foncé.

Le pharynx mesure 0,048-0,057 millimètre de long sur 0,026-0,039 millimètre de large ; l'œsophage, très court, se continue avec les deux branches intestinales ; celles-ci contournent l'appareil de fixation, puis elles descendent dans la portion postérieure du corps jusqu'au niveau de l'ébauche de la bourse copulatrice.

Parmi les ébauches des glandes génitales, on observe celles de l'ovaire et des testicules, de forme ovale, elles sont situées immédiatement au-dessous de la limite des deux portions du corps. L'ovaire mesure 0,022-0,055 millimètre dans le sens longitudinal et 0,035-0,048 millimètre dans le sens transversal ; il est situé dans le plan médian. Le testicule antérieur, mesurant

0,035-0,055 millimètre dans le sens longitudinal et 0,033-0,079 millimètre dans le sens transversal, se trouve indifféremment à gauche ou à droite de l'ovaire, tandis que le testicule postérieur se trouve plus bas que l'ovaire et le testicule antérieur; il mesure 0,033-0,044 millimètre dans le sens longitudinal et 0,083-0,105 millimètre dans le sens transversal. Sur la face dorsale, à une distance de 0,055-0,099 millimètre de l'extrémité postérieure du corps, on trouve l'ébauche de la bourse copulatrice : elle a la forme d'une fente transversale mesurant 0,026-0,066 millimètre.

Il est intéressant de mentionner que, chez une jeune *Egretta garzetta* captive depuis trois mois et nourrie pendant ce temps avec différentes espèces de poissons cyprinoïdes, nous avons trouvé dans l'intestin deux jeunes exemplaires non ovigères de *Proalaria trilobum,* dont le plus grand mesurait 0,59 millimètre de long (dont 0,44 millimètre pour la portion antérieure et 0,15 millimètre pour celle postérieure) sur 0,48 millimètre de large pour la première et 0,23 millimètre pour la deuxième portion du corps.

LA MÉTACERCAIRE

Depuis plusieurs années, nous avons remarqué, dans les muscles de certains poissons de la famille des cyprinidés provenant des étangs de la région danubienne, des métacercaires de *Strigeatoïdea* différentes de celles déjà connues. Ainsi, dans le travail que nous avons publié en 1917 sur les métacercaires d'*Opisthorchis felineus, Pseudamphistomum danubiense* et *Metorchis albidus,* nous avons mentionné que, dans les muscles de la tanche et de l'ide-jesse, on trouve deux espèces de larves de Holostomidés, les unes plus grandes et les autres plus petites. De même, nous avons figuré ces larves sur les planches I et II, en les désignant par les lettres *Hlg* et *Hlk*, dont les premières représentent la métacercaire de *Proalaria trilobum,* et les secondes la métacer- d'un *Prohemistomum.*

Les espèces de poissons chez lesquelles nous avons trouvé jusqu'à présent la métacercaire en question sont les suivantes : la tanche [*Tinca tinca (L.)*], la brême bordelière [*Blica björkna (L.)*], l'ide jesse [*Idus idus (L.)*] et le gardon [*Leuciscus rutilus (L.)*].

En détachant la peau des poissons frais, on voit assez bien, en plein tissu musculaire, des petits corpuscules blanchâtres, de forme ellipsoïdale, avec un diamètre longitudinal d'environ 1 mil-

limètre. A l'examen microscopique, on voit que ces formations consistent dans des kystes ovoïdes ou ellipsoïdes mesurant 0,99-1,32 millimètre de long sur 0,83-1,16 millimètre de large, avec une paroi fibreuse, relâchée, mesurant 0,029-0,049 millimètre d'épaisseur. A l'intérieur du kyste, on voit une métacercaire ayant un contour ovoïde ou ellipsoïde, d'une couleur presque noire, avec une région centrale plus claire de forme sphérique ou ellipsoïdale. La métacercaire en repos occupe seulement une partie à l'intérieur du kyste et mesure environ 0,82 millimètre de long sur 0,72 millimètre de large. Si, par une légère pression ou par la dissociation on met la métacercaire en liberté, on observe qu'elle est entourée d'une couche de substance glaireuse qui semble former une véritable enveloppe.

Les métacercaires détachées de leurs enveloppes glaireuses dans une goutte d'eau se remuent activement ; quand elles s'allongent, elles peuvent atteindre 1,48-2,30 millimètres, en moyenne elles mesurent 1,32 millimètre de long. Dans ces conditions, on peut bien observer que leur corps se compose de deux portions, une antérieure plus longue (0,73-0,99 millimètre) et plus large (0,59-0,66 millimètre), une autre postérieure plus courte (0,26-0,49 millimètre) et plus étroite (0,17-0,26 millimètre). La portion antérieure d'une forme ovalaire est légèrement excavée sur la face ventrale, tandis que la portion postérieure est presque cylindrique. Le bord antérieur de la première portion du corps est trilobé ; le lobe médian est occupé par la ventouse buccale sphérique, dirigée vers la face ventrale, avec un diamètre de 0,098 millimètre ; entre le lobe médian et les lobes latéraux, on voit les deux pseudo-ventouses céphaliques, presque hémisphériques, mesurant environ 0,39 millimètre dans le sens longitudinal et 0,098 dans le sens transversal. La ventouse buccale et les pseudo-ventouses sont un peu plus transparentes que le reste du corps. Un peu avant le milieu de la portion antérieure du corps se trouve la ventouse abdominale sphérique, plus grande (0,11 millimètre de diamètre environ) que la buccale ; immédiatement en arrière se trouve l'appareil de fixation, de forme ellipsoïdale, échancré dans le plan médian, qui mesure 0,24-0,33 millimètre de long sur 0,16-0,20 millimètre de large ; la ventouse abdominale et l'appareil de fixation correspondent à la région plus claire située dans le centre de la portion antérieure du corps. Parmi les organes internes, on peut apercevoir les branches intestinales sous la forme de deux cordons très étroits et plus clairs que le reste du corps qui descendent sur les côtés latéraux

de l'appareil de fixation. Sur la face dorsale de la deuxième partie du corps, à une petite distance de l'extrémité postérieure, on remarque une fente transversale en croissant avec la concavité dirigée vers l'extrémité postérieure du corps, qui représente l'ébauche de la bourse copulatrice.

Le système excréteur est représenté par des canaux qui forment un réseau sous-cutané volumineux, à mailles très serrées. Les ventouses, les pseudo-ventouses céphaliques, les branches intestinales, l'ébauche de la bourse copulatrice et spécialement l'appareil de fixation ne possèdent que de rares et très fins canalicules excréteurs. C'est grâce à cette structure qu'ils ont une apparence plus claire. La présence de l'énorme quantité de corpuscules calcaires ellipsoïdes ou sphériques (0,0022-0,011 millimètre de diamètre) dans le système excréteur de cette métacercaire lui donne, à la lumière transmise, une couleur noire particulière qu'on n'observe pas chez d'autres métacercaires de *Strigeatoïdea*. M^lle^ Damboviceanu a déterminé chez cette métacercaire, de même que chez *Tylodelphys clavata*, la constitution chimique de ces corpuscules qui sont également formés de carbonate de chaux (1).

Il est très difficile de distinguer chez cette métacercaire les canaux excréteurs longitudinaux ; tout au plus si on aperçoit les deux branches initiales du canal excréteur longitudinal médian (sur les côtés de la ventouse buccale) et la portion de ce canal qui descend de la base de l'appareil de fixation vers la portion postérieure du corps.

En ce qui concerne la vitalité de cette métacercaire, nous pouvons affirmer qu'elle ne résiste pas longtemps dans les muscles des poissons putréfiés, comme cela arrive chez les métacercaires pourvues de deux capsules. Nous avons pu conserver la métacercaire vivante dans l'eau de conducte pendant douze heures.

Parmi les métacercaires fixées dans de l'alcool, celles contractées ont un contour ovoïde, la partie plus large regardant en avant. Elles mesurent 0,69-0,76 millimètre de long sur 0,42-0,55 millimètre de large ; tandis que celles bien allongées ont le corps divisé en deux portions, l'une antérieure plus grande avec un contour ovalaire et l'autre postérieure de forme conique. Elles mesurent 0,83-1,25 millimètre de long (dont 0,46-0,86 millimètres pour la première portion et 0,20-0,40 millimètre pour la dernière)

(1) Nous remercions à cette occasion M^lle^ Damboviceanu pour la bienveillance qu'elle a eue de déterminer la nature chimique des corpuscules des canaux excréteurs chez ces métacercaires.

sur 0,57-0,69 millimètre de large pour la portion antérieure et 0,26-0,39 millimètres pour la postérieure.

Le bord antérieur de la première portion du corps est trilobé ; le lobe médian, qui est le plus long, est occupé par la ventouse buccale sphérique (0,066-0,096 millimètre de diamètre). Entre le lobe médian et les lobes latéraux se trouvent les pseudo-ventouses céphaliques, mesurant 0,070-0,110 millimètre de diamètre. Sur la face ventrale, qui est excavée en cuillère, on observe la ventouse abdominale plus grande (0,077-0,12 millimètre de diamètre) que la buccale ; ensuite l'appareil de fixation d'une forme ellipsoïdale, qui suit immédiatement la ventouse abdominale. Il mesure 0,20-0,33 millimètre de long sur 0,12-0,29 millimètre de large.

Chez les métacercaires colorées par le carmin aluné, on observe du côté dorsal, au niveau de la moitié postérieure de l'appareil de fixation et plus en arrière, une glande avec un contour plus ou moins ovalaire, échancrée sur la ligne médiane, dans sa moitié antérieure, de manière à former deux lobes avec les bords externes un peu crénelés. Il est intéressant à noter que cette glande ne se colore pas avec la même intensité dans toute sa longueur, à savoir: une zone antérieure en rose pâle, une autre moyenne en rose foncé, et enfin une zone postérieure colorée également en rose pâle. Sur des coupes en série colorées par la méthode de Dominici, on peut voir que les cellules de la zone antérieure possèdent des noyaux volumineux, sphériques, se colorant en bleu pâle; celles de la zone moyenne possèdent des noyaux plus petits, arrondis, qui prennent plus intensément le bleu, et les cellules de la zone postérieure sont pourvues de granulations basophiles dans leur protoplasma et possèdent des noyaux encore plus volumineux, un peu allongés, se colorant en bleu pâle; ces dernières cellules ont l'apparence des gonidies. Nous voulons de plus mentionner que, chez le trématode adulte, nous avons trouvé l'ovaire situé dans cette région de la zone postérieure de la glande de l'appareil de fixation. Nous croyons pourtant avoir trouvé chez la métacercaire encore une autre formation glandulaire qui représenterait l'ébauche de l'ovaire. Il y a en plus des cellules glandulaires semblables à celles de la zone antérieure de cette glande, dans l'épaisseur de l'appareil de fixation. Si nous comparons les affinités tinctoriales de la glande de l'appareil de fixation de cette métacercaire avec celles de la glande des exemplaires non ovigères de *Proalaria trilobum*, nous voyons qu'il n'existe presque

pas de différences, de sorte que, rien que d'après ce caractère, on pourrait déterminer l'espèce de la métacercaire (1).

A l'intérieur du corps, on peut distinguer le pharynx ellipsoïdal mesurant 0,055-0,073 millimètre de long sur 0,039-0,050 millimètre de large. L'œsophage est très court (0,018-0,048 millimètre), il se continue avec les deux branches intestinales ; ces dernières s'écartent et contournent l'appareil de fixation en descendant dans la portion postérieure du corps des deux côtés des canaux excréteurs longitudinaux jusqu'à une petite distance de l'ébauche de la bourse copulatrice. Celle-ci est représentée par une petite fente transversale (0,044-0,11 millimètres) placée à une distance de 0,059-0,099 millimètre de l'extrémité postérieure du corps.

Immédiatement en arrière de la limite des deux portions du corps, on aperçoit les ébauches de l'ovaire et des testicules. La première se trouve dans le plan médian, elle est ovale et mesure 0,044-0,055 millimètre dans le sens longitudinal et 0,039-0,055 millimètres dans le sens transversal. L'ébauche du testicule antérieur est à droite ou à gauche de l'ovaire ; de forme ovale, elle mesure 0,044-0,077 millimètre dans le sens longitudinal et 0,044-0,066 millimètre dans le sens transversal. L'ébauche du testicule postérieur se trouve plus bas que l'ovaire et le testicule antérieur; d'une forme ovalaire, elle mesure 0,044-0,077 millimètre dans le sens longitudinal et 0,077-0,10 dans le sens transversal. On voit encore les deux canaux excréteurs longitudinaux de la portion postérieure du corps, débouchant par un très petit canalicule dans le pore excréteur, qui se trouve à l'extrémité postérieure, dans le plan médian.

En comparant cette métacercaire avec les exemplaires non ovigères de *Proalaria trilobum*, on se rend compte qu'ils sont assez semblables par leur conformation extérieure, ainsi que leur

(1) Le fait d'avoir trouvé chez les métacercaires des caractères morphologiques qui nous servent à les identifier avec leurs formes adultes et, par conséquent, nous dispensent de recherches expérimentales sur les oiseaux ichtyophages, est d'une grande importance pour les motifs suivants :

1° Il est difficile d'obtenir des oiseaux à l'état vivant, surtout quand il s'agit de jeunes exemplaires. D'autre part, ce sont surtout ceux-ci qui offrent un matériel expérimental plus favorable à cause de la facilité relative avec laquelle on réussit encore à les nourrir en captivité.

2° Il est difficile de prolonger au delà d'une certaine limite la vie de ces oiseaux en captivité. De plus, les oiseaux, une fois obtenus, doivent être gardés plusieurs jours en observation, pour que dans le cas d'infestations naturelles les formes parasitaires jeunes puissent évoluer jusqu'à l'état adulte.

3° Il est enfin assez difficile de se procurer en même temps les oiseaux et les poissons parasités nécessaires pour ces sortes d'expériences.

organisation interne, spécialement celle de la glande de l'appareil de fixation, qui est très caractéristique pour ce trématode. Nous n'hésitons donc pas à affirmer que cette larve représente la métacercaire de *Proalaria trilobum*. Le fait que les métacercaires sont un peu plus grandes que les premiers stades évolutifs vers l'état adulte, doit être attribué, nous croyons, spécialement, à la grande quantité de corpuscules calcaires de leur réseau excréteur, qui empêchent chez la métacercaire la contraction du corps pendant la fixation dans de l'alcool. Je nomme cette métacercaire *Displostomum trilobum, n. sp.*

Recherches expérimentales sur l'évolution du Diplostomum trilobum vers le stade ovigère. — Pendant le mois d'août 1929, nous avons obtenu un *Phalacrocorax carbo* et deux *Phalacrocorax pygmeus* provenant des environs de l'étang de Serbanu. Nous les avons conservés en captivité jusqu'à la fin du mois d'octobre, en les nourrissant avec des poissons de mer, spécialement avec des *Atherina pontica* et différentes espèces de *Gobius*. Le 30 octobre, nous leur avons donné en un seul repas de la viande de tanche infestée avec du *Diplostomum trilobum* et nous avons sacrifié ensuite ces oiseaux vingt-quatre, quarante-huit et soixante-douze heures après pour obtenir les stades évolutifs correspondants.

Proalaria trilobum vingt-quatre heures après l'infestation. — Nous avons pu recueillir dans l'intestin du *Phalacrocorax pygmeus* quatre exemplaires adultes de *Proalaria trilobum* et trois exemplaires non ovigères. Ces derniers mesuraient en moyenne 0,61 millimètres de long, dont 0,39 millimètre pour la portion antérieure et 0,22 millimètre pour la portion postérieure du corps sur 0,36 millimètre de large pour la première et 0,24 millimètre de large pour la dernière portion. Ils ressemblaient assez bien à des *Diplostomum trilobum,* seulement la glande de l'appareil de fixation était déjà fragmentée en lobules et les glandes génitales paraissaient mieux délimitées ; le testicule postérieur, plus grand, mesurait 0,14 millimètre de diamètre.

Proalaria trilobum quarante-huit heures après l'infestation. — Dans l'intestin du *Phalacrocorax carbo,* nous avons trouvé 187 exemplaires adultes de *Proalaria trilobum* provenant d'une infestation spontanée et 26 exemplaires non ovigères de *Proalaria trilobum* provenant de l'infestation expérimentale. Ces derniers exemplaires mesuraient en moyenne 0,74 millimètre de long (dont 0,49 millimètre pour la portion antérieure du corps et 0,25 millimètre pour celle postérieure) sur 0,41 millimètre de large pour la première portion et 0,17 millimètre pour la dernière. Les

glandes génitales étaient plus développées ; l'ovaire mesurait 0,066 millimètres de diamètre, le testicule antérieur 0,077 millimètre et le testicule postérieur 0,18 millimètre. Nous avons bien observé la vésicule séminale avec des spermatozoïdes, et de plus la glande de Mehlis.

Proalaria trilobum soixante-douze heures après l'infestation. — A l'autopsie du second *Phalacrocorax pygmeus,* nous avons isolé dans le contenu intestinal vingt-deux exemplaires adultes de *Proalaria trilobum* et seize exemplaires ovigères pas encore adultes, mesurant en moyenne 0,93 millimètre de long (dont 0,49 millimètre pour la portion antérieure et 0,43 millimètre pour celle postérieure) sur 0,64 millimètre de large pour la première portion et 0,29 millimètre pour la dernière. Dans ce stade de l'évolution du parasite, les deux portions du corps sont à peu près égales en longueur et tous les organes sont bien développés.

L'ovaire mesure 0,058 millimètre de long sur 0,088 millimètre de large, le testicule antérieur 0,12 millimètre de long sur 0,12 millimètre de large, et le testicule postérieur 0,13 millimètre de long d'un côté et 0,09 millimètre de l'autre sur 0,28 millimètre de large. Nous avons pu observer jusqu'à cinq œufs dans l'utérus. Donc, trois jours après l'infestation, *Proalaria trilobum* devient ovigère.

5° *Prolaria confusum (Krause) La Rue, 1926. (Hemistomum confusum Krause, 1914 ; Hemistomum trilobum Brandes, 1888, nec Diesing, 1850.)*

A ma connaissance, *Proalaria confusum* a été jusqu'à présent récolté seulement par Kollar (1858), de l'intestin du *Pelecanus crispus Bruch.* Brandes, qui a étudié ce matériel conservé au Musée de Vienne, a confondu ce trématode avec *Proalaria trilobum.* D'après cet auteur, il mesure 3-4 millimètres de longueur. Krause, qui a repris plus tard l'étude de ce même matériel, affirme qu'il provient du *Pelecanus onocrotalus L.*; il l'a très bien décrit et il a donné les mesures suivantes : 1,80-3 millimètres de long, dont 1,1-1,8 millimètre pour la portion antérieure et 0,67-1,2 millimètre pour la postérieure, sur 0,60 millimètre de large pour la première portion et 0,23-0,29 pour la seconde.

Nous avons trouvé ce trématode cinq fois en Roumanie, quatre fois chez *Pelecanus onocrotalus* et une fois chez *Pelecanus crispus.* Pour la première fois, nous l'avons trouvé en janvier 1913 chez un *Pelecanus onocrotalus* captif, envoyé par l'administration des

Pêcheries de Tulcea. Une autre fois (le 11 juin de la même année), chez un jeune *Pelecanus onocrotalus* qui n'avait pas encore quitté le nid. Il provenait du delta du Danube, près du village Rossetti. La troisième fois, nous l'avons trouvé dans l'intestin d'un *Pelecanus crispus* chassé le 30 octobre 1928 à Fetesti, département de Ialomita, et enfin pendant le mois d'août 1929, chez deux *Pelecanus onocrotalus* qui nous ont été envoyés de Hârşova, département Constanţa.

LES EXEMPLAIRES OVIGÈRES

Ces exemplaires mesurent 2,08-3,46 millimètres de longueur. Leur corps est partagé par un étranglement très accentué en deux portions : une antérieure lamelleuse, de forme ovale, mesurant 1,15-1,98 millimètre de longueur sur 0,49-0,82 millimètre de large, une autre postérieure presque cylindrique, un peu plus petite que l'antérieure, 0,69-1,81 millimètre de long sur 0,30-0,53 millimètre de large.

La portion antérieure du corps est légèrement excavée sur la face ventrale, spécialement dans sa moitié postérieure; son bord antérieur présente trois lobes : un médian plus long, dont le sommet est occupé par la ventouse buccale, sphérique, 0,11-0,15 millimètre de diamètre et deux lobes latéraux. De chaque côté du lobe médian, on observe deux formations semi-lunaires, striées transversalement, assez caractéristiques, mesurant 0,11-0,24 millimètre de long sur 0,078-0,12 millimètre de large, qui représentent les vestiges des pseudo-ventouses céphaliques existant chez d'autres *Strigeatoïdea*. La ventouse abdominale est plus petite (0,077-0,11 millimètre de diamètre) que la ventouse buccale et se trouve le plus souvent un peu en arrière du centre de la portion antérieure du corps, rarement on la trouve en avant. A une certaine distance de la ventouse abdominale, et dans le plan médian, est situé l'appareil de fixation, qui est de forme ellipsoïdale (d'après Krause, il aurait une forme hémisphérique) mesurant 0,24-0,54 millimètre de long sur 0,20-0,39 millimètre de large. Chez les exemplaires plus jeunes colorés *in toto* par le carmin aluné, on voit que la glande de l'appareil de fixation est représentée par deux séries de lobes successifs : les uns antérieurs limitant du côté dorsal l'appareil de fixation et les autres postérieurs, situés immédiatement en arrière, très allongés, avec une disposition radiaire. Chez les exemplaires plus âgés coupés en série et colorés par hémalun-éosine, on observe une glande ellip-

soïdale, lobulée, située du côté dorsal et commençant environ au niveau de la moitié dorsale de l'appareil de fixation, elle s'étend jusqu'à la limite des deux portions du corps. Elle est composée de cellules avec des petits noyaux qui se colorent en bleu foncé. Dans toute l'épaisseur de l'appareil de fixation, on trouve également des cellules glandulaires avec des noyaux plus grands, sphériques ou un peu ovalaires, qui se colorent en bleu plus pâle.

Krause, dans sa monographie sur les Hemistomiens, s'occupe spécialement dans la partie générale de son travail du complexe glandulaire de l'appareil de fixation. Il distingue une glande et un tissu glandulaire, ce dernier étant situé dans l'épaisseur de l'appareil de fixation, mais il n'accorde aucune attention à la morphologie des noyaux de ces deux catégories cellulaires, quoiqu'il les ait très bien figurés.

La portion postérieure du corps, qui est un peu plus raccourcie que l'antérieure, présente au voisinage de son extrémité terminale et sur la face dorsale l'ouverture de la bourse copulatrice, son diamètre transversal mesure 0,13-0,20 millimètre.

D'après Krause, les deux portions du corps sont en continuation. D'après nos recherches, on n'observe cette disposition que dans les cas où les trématodes ont été fixés après la mort ; s'ils ont été fixés encore vivants, on voit que la portion antérieure du corps est plus ou moins repliée sur la face dorsale. Nous avons pu observer cette disposition non seulement chez *Proalaria confusum*, mais encore chez d'autres espèces de *Proalaria*.

Le tube digestif est constitué par un pharynx plus long (0,12-0,16 millimètre de long sur 0,073-0,099 millimètre de large) que la ventouse buccale, il se continue avec un œsophage mesurant 0,011-0,55 millimètre de longueur. Les branches intestinales divergentes sont visibles jusqu'au niveau du pôle antérieur de l'appareil de fixation. A cet endroit, elles passent au-dessous de cet appareil jusqu'à la limite des deux portions du corps, en se rapprochant peu à peu; puis elles descendent dans la portion postérieure, entre les testicules et la couche des glandes vitellogènes de la face ventrale. Les culs-de-sac des branches intestinales arrivent au voisinage de la bourse copulatrice.

Les organes génitaux mâles comprennent deux testicules, situés l'un derrière l'autre dans la portion postérieure du corps, où ils occupent plus des deux tiers de cette portion. Le testicule antérieur, qui est le plus petit, a plus ou moins la forme d'un V majuscule avec l'ouverture dirigée en avant; il mesure 0,17-0,33 millimètre dans le sens longitudinal et 0, 22-0,49 millimètre dans le

sens transversal. Le testicule postérieur a la forme d'un *H* majuscule, il mesure 0,27-0,54 millimètre dans le sens longitudinal et 0,24-0,44 millimètre dans le sens transversal.

Les deux canaux efférents prennent naissance dans la courbure de la partie médiane des testicules, près de leurs faces antérieures. Le canal efférent du testicule antérieur monte dans l'axe du corps jusqu'au voisinage de l'ovaire; le canal efférent du testicule postérieur, après un court trajet dans l'axe du corps, se dirige du côté droit et monte jusqu'au même niveau que le canal efférent du premier testicule; à cet endroit, il revient dans l'axe du corps s'unir avec l'autre canal efférent pour former le canal déférent, qui longe la face dorsale de la branche descendante de l'utérus jusqu'à une certaine distance de l'extrémité postérieure du corps. Il se continue ensuite par une vésicule séminale très ondulée qui, par un court canal éjaculateur, débouche dans la branche descendante de l'utérus, sur la face dorsale au point de son entrée dans la bourse copulatrice. Celle-ci représente une cavité qui occupe l'extrémité postérieure du corps, dont l'ouverture est dirigée vers la face dorsale et mesure 0,13-0,20 millimètre dans le sens transversal. D'après Krause, « Die Genitalöffnung liegt am hinteren dorsalen Rand des eigentümlichen und recht kompliziert gebauten Genitalatriums. Dieses stellt einen schregliegenden plattkugelförmigen Hohlraum dar, der fast ganz von einen ähnlich geformten Bulbus (b) ausgefüllt wird ». Notre avis est que la bourse copulatrice devrait être envisagée comme une cavité dont la moitié dorsale est occupée par une papille hémisphérique très musculeuse et dont la moitié ventrale est remplie par un cône génital percé dans son axe central par la portion terminale de l'utérus. Assez souvent, le cône génital fait saillie à travers l'ouverture de la bourse copulatrice.

Les organes génitaux femelles se composent d'un ovaire ellipsoïdal, qui est situé un peu en arrière de la limite des deux portions du corps, au voisinage de la face dorsale. Le plus souvent, il est plus rapproché du côté gauche, sa partie postérieure étant enclavée entre les deux branches du premier testicule. Il mesure 0,078-0,13 millimètres dans le sens longitudinal et 0,12-0,20 millimètre dans le sens transversal. L'oviducte prend son origine dans le plan médian, au point de rencontre de la face dorsale avec la face postérieure de l'ovaire. D'abord, il descend un peu dans le plan médian, puis il se dirige vers le côté droit du corps. Il donne naissance au canal de Laurer et descend jusqu'au niveau de l'espace intertesticulaire, où il reçoit le canal du vitellosac,

traverse la glande de Mehlis, située du côté droit, et se dilate en ootype. L'ootype se continue par la branche ascendante de l'utérus, qui monte obliquement jusqu'au niveau de la limite des deux portions du corps, où elle se prolonge par la branche descendante de l'utérus. Celle-ci descend dans le plan médian jusqu'à son débouchement dans la bourse copulatrice.

Dans la portion antérieure du corps, les deux glandes vitellogènes forment deux bandes qui, chez les exemplaires plus jeunes, montent sur les côtés latéraux de l'appareil de fixation, jusqu'à mi-distance entre la ventouse abdominale et l'appareil de fixation, tandis que chez les plus âgés elles montent jusqu'au niveau du bord postérieur de la ventouse abdominale. Dans la portion postérieure du corps, les glandes vitellogènes forment une bande ventrale composée de follicules qui se disposent d'une manière tout à fait particulière : dans la partie médiane de la face ventrale, il y a environ trois séries longitudinales, parallèles, de follicules, qui descendent presque en ligne droite jusqu'au niveau de la bourse copulatrice. Des traînées secondaires partent obliquement vers les parties latérales du corps. Ces traînées secondaires recouvrent toute la face ventrale du corps du parasite. Partant de la bande ventrale des follicules vitellogènes, quatre canaux pénètrent dans l'espace intertesticulaire et embrassent les branches intestinales, deux en dedans et deux en dehors. Ces canaux se réunissent deux à deux et forment ainsi les deux canaux vitellogènes un peu plus volumineux. Ceux-ci débouchent dans un vitellosac situé dans le plan médian, un peu en arrière du niveau de la glande de Mehlis .

Nous avons pu compter jusqu'à dix-huit œufs dans l'utérus ; ils mesuraient 0,094-0,101 millimètre de long sur 0,064-0,066 millimètre de large.

Le système excréteur se compose d'un réseau excréteur sous-cutané très apparent, surtout dans la portion antérieure du corps. Le canal excréteur longitudinal médian commence par deux petits canalicules qui bordent la ventouse buccale et le pharynx et s'unissent au niveau de l'œsophage pour former un canal unique. Celui-ci descend dans le plan médian jusqu'au bord antérieur de l'appareil de fixation, où il se ramifie pour former le réseau excréteur de cet appareil. Au niveau du bord postérieur de l'appareil de fixation, le canal excréteur se reconstitue et descend jusqu'à la limite des deux portions du corps, où il se bifurque. Les deux canaux excréteurs en résultant descendent jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure du corps, où ils

débouchent dans le pore excréteur. Dans la portion antérieure, il y a encore quatre canaux excréteurs longitudinaux latéraux, dont deux longent immédiatement en dehors les branches intestinales (ce sont les canaux longitudinaux internes), les deux autres cheminent à une certaine distance des bords latéraux du corps (ce sont les canaux longitudinaux externes). Les canaux excréteurs internes prennent naissance des branches antérieures du canal excréteur longitudinal médian un peu plus bas que le milieu du pharynx et les canaux externes au-dessus du milieu du pharynx. Ces quatre canaux longitudinaux débouchent dans le réseau excréteur sous-cutané, au niveau de l'appareil de fixation.

Amphitypie. — Nous avons débité en coupes sériées trois exemplaires de *Proalaria confusum* et nous avons trouvé chez tous les trois la glande de Mehlis du côté droit. Krause a trouvé chez le même trématode la glande de Mehlis quatre fois du côté droit et une seule fois du côté gauche. Il semble donc que chez *Proalaria confusum* les amphitypies de cette glande sont moins fréquentes que chez *Proalaria trilobum* et *Neodiplostomum cuticola.*

Hôtes. — Nous avons trouvé *Proalaria confusum* seulement chez *Pelecanus onocrotalus* et chez *Pelecanus crispus.*

Fréquence. — Tous les pélicans que nous avons autopsiés ont été infestés par *Proalaria confusum* ; le plus grand nombre d'exemplaires que nous avons pu recueillir chez un seul individu a été de 106 trématodes.

Habitat. — Nous avons trouvé ce parasite exclusivement dans le tiers antérieur de l'intestin du *Pelecanus onocrotalus* et du *Pelecanus crispus.*

Distribution géographique. — Les pélicans provenaient des régions suivantes : Serbanu (dép. Braïla), Feteşti (Ialomiţa), Hârşova (Constanţa) et Rossetti (Tulcea).

LES EXEMPLAIRES NON OVIGÈRES

Nous avons trouvé chez les mêmes oiseaux des exemplaires non ovigères également de *Proalaria confusum.* Ils mesurent 1,28-1,48 millimètre de long (dont 1,05-1,12 millimètre pour la portion antérieure et 0,23-0,36 millimètre pour la postérieure) sur 0,59-0,69 millimètre de large, pour la première portion du corps et 0,19-0,20 millimètre pour la deuxième. La ventouse buccale mesure 0,066-0,077 millimètre de long sur 0,061-0,077 millimètre de large. Les pseudo-ventouses céphaliques mesurent

0,11-0,13 millimètre dans le sens longitudinal et 0,066 millimètre dans le sens transversal. La ventouse abdominale, située en arrière du centre de cette portion du corps, mesure 0,044-0,048 millimètre de long sur 0,066-0,068 millimètre de large. L'appareil de fixation ellipsoïdal mesure 0,20-0,21 millimètre de long sur 0,10-0,11 millimètre de large. Chez les exemplaires colorés par le carmin aluné, on peut très bien voir que la glande de l'appareil de fixation est représentée par deux zones glandulaires situées immédiatement l'une après l'autre, toutes les deux étant constituées par une série de lobules allongés avec une disposition radiaire ; les lobules de la zone antérieure se colorent en rose pâle, et ceux de la zone postérieure en rose plus foncé. Les deux zones de la glande mesurent ensemble 0,16 millimètre environ dans le sens longitudinal et 0,20 millimètre dans le sens transversal.

Le pharynx ellipsoïdal mesure 0,061-0,088 millimètre de long sur 0,036-0,052 millimètre de large ; l'œsophage mesure environ 0,013 millimètre de longueur.

Chez les exemplaires qui se trouvent dans le premier stade de l'évolution, le testicule antérieur a une forme irrégulière, tandis que le postérieur est allongé de travers. Chez les exemplaires plus évolués, la forme du testicule antérieur ressemble plus ou moins à celle d'un *V* majuscule, tandis que la forme du testicule postérieur ressemble à celle d'un *H*. L'ébauche du testicule antérieur mesure 0,066-0,11 millimètre de long sur 0,099-0,12 millimètre de large, celle du testicule postérieur mesure 0,055-0,12 millimètre de large.

L'ébauche de l'ovaire se trouve sur la ligne médiane, avant le testicule antérieur ; elle est sphérique et mesure 0,039-0,049 millimètre de diamètre.

LA MÉTACERCAIRE

A l'occasion de nos recherches sur les métacercaires des trématodes digénétiques de la musculature des différentes espèces de poissons des étangs de la région danubienne, nous avons trouvé depuis longtemps chez le rotengle [*Scardinius erythrophthalmus (L.)*], l'ide jesse [*Idus idus (L.)*] la brême bordelière [*Blicca björkna (L.)*], la perche (*Perca fluviatilis L.*) et *Mugil saliens* Risso, une métacercaire de *Strigeatoïdea* bien différente des métacercaires de ce groupe de trématodes.

Les kystes de cette métacercaire sont ovales, ellipsoïdes ou plus

ou moins en forme d'un citron mesurant 0,99-1,39 millimètre de long sur 0,69-0,86 millimètre de large. Ils ont une coloration blanchâtre et sont nettement visibles à travers la musculature. La paroi du kyste est constituée par une seule membrane conjonctive, fibreuse, de 0,029-0,049 millimètre d'épaisseur. A l'examen microscopique, on voit à travers la paroi une métacercaire de *Strigeatoïdea,* repliée le plus souvent sur la face ventrale. De même, on peut remarquer que le corps de la métacercaire se compose de deux portions très inégales : une antérieure plus longue en forme d'une bandelette, ayant le bord antérieur trilobé, une autre postérieure beaucoup plus courte et plus étroite, de forme plus ou moins conique. A travers la paroi du kyste, on aperçoit la ventouse buccale, l'appareil de fixation et aussi les cinq canaux excréteurs longitudinaux (un médian et quatre latéraux) presque équidistants, parallèles et à peu près du même volume, qui parcourent en longueur la plus grande partie de la portion antérieure du parasite. Ces canaux, qui ont une coloration grise foncée, à cause des nombreuses granulations qu'ils contiennent, donnent à cette portion du corps un aspect très particulier, de sorte que seulement d'après ce dernier caractère on pourrait facilement différencier cette métacercaire des autres métacercaires de *Strigeatoïdea.*

La métacercaire extraite du kyste dans une goutte d'eau est relativement mobile, dans un état moyen d'allongement elle mesure 1,52-1,85 millimètre de long sur 0,50-0,66 millimètre de large dans la portion antérieure et 0,20-0,26 millimètre dans celle postérieure. En état de contraction, la portion postérieure s'efface presque complètement, de sorte que le contour du parasite prend la forme d'un ovale mesurant environ 1,09 millimètre de long sur 0,63 millimètre de large. La première portion, qui est lamelleuse et un peu excavée sur la face ventrale, surtout dans sa moitié postérieure, a un contour ellipsoïdal avec le bord antérieur échancré en trois lobes, dont l'un médian et deux latéraux. Le sommet du lobe médian est occupé par une ventouse buccale sphérique de 0,084-0,099 millimètre de diamètre, et les parties latérales sont occupées par deux formations semi-lunaires, striées transversalement, assez caractéristiques, mesurant environ 0,15 millimètre de diamètre transversal qui représentent les pseudo-ventouses céphaliques des autres *Strigeatoïdea.* A une distance d'environ 0,78 millimètre de l'extrémité antérieure du corps, c'est-à-dire en arrière de la moitié de la première portion, on aperçoit une ventouse abdominale plus petite (0,066 millimètre de

diamètre environ) que la buccale et à une distance d'environ 0,25 millimètre de la ventouse abdominale est situé un petit appareil de fixation de forme ellipsoïdale mesurant 0,342-0,343 millimètre de long sur 0,15-0,25 millimètre de large. Chez les métacercaires colorées par le carmin aluné, on observe du côté dorsal, au niveau de la moitié postérieure de l'appareil de fixation et un peu en arrière, une glande qui se compose de deux zones: une antérieure en forme de croissant se colorant en rose pâle, et une autre postérieure représentée par une série de lobules allongés avec une disposition radiaire, qui prennent une teinte rose foncé. Sur des coupes en série colorées par hémalun-éosine, on voit que la zone antérieure de la glande possède deux sortes de cellules : une première catégorie de cellules avec des petits noyaux, arrondis, plus nombreux vers le centre de la glande ; une autre avec des noyaux plus grands, sphériques, plus nombreux vers la périphérie. Ces deux catégories de noyaux se colorent en rose pâle. La zone postérieure de la glande, représentée par des lobules allongés, se compose de cellules avec des petits noyaux arrondis, qui se colorent en rose plus foncé. En dehors de cette glande, on observe aussi dans l'épaisseur de l'appareil de fixation des cellules glandulaires avec des noyaux semblables à ceux de la zone antérieure de la glande.

Si on compare le complexe glandulaire de l'appareil de fixation des métacercaires de *Neodiplostomum cuticola* et de *Neodiplostomum perlatum* avec celui des métacercaires de *Proalaria trilobum* et de *Proalaria confusum*, on voit que chez les deux premières métacercaires la glande proprement dite de l'appareil de fixation est représentée par une seule zone de cellules pourvues de petits noyaux, tandis que la glande des deux dernières métacercaires se compose au moins de deux zones.

La portion postérieure du corps de cette métacercaire, de forme plus ou moins conique, présente sur sa face dorsale et au voisinage de l'extrémité postérieure une petite fente située transversalement, qui représente l'ébauche de la bourse copulatrice.

En ce qui concerne le tube digestif, on voit qu'à la ventouse buccale succède un pharynx ellipsoïdal qui mesure environ 0,057 millimètre de long sur 0,044 millimètre de large. L'œsophage est court, il se bifurque en deux branches intestinales légèrement écartées l'une de l'autre, plus ou moins parallèles, qui suivent un trajet plus ou moins ondulé jusqu'au voisinage de l'extrémité postérieure du corps. A l'intérieur des branches intestinales se

trouvent des granulations fines, noires, qui mettent très bien en évidence le trajet de ces branches.

Les ébauches des glandes génitales sont représentées par trois formations, petites, arrondies, situées à peu près l'une derrière l'autre, dans le plan médian de la moitié antérieure de la portion postérieure du corps. La formation la plus antérieure représente l'ébauche de l'ovaire et les deux autres les ébauches des testicules. L'ébauche de l'ovaire mesure 0,020-0,024 millimètre de diamètre; l'ébauche du testicule antérieur mesure 0,030-0,044 millimètre de long sur 0,044-0,048 millimètre de large, et l'ébauche du testicule postérieur mesure 0,037-0,055 millimètre de long sur 0,044-0,050 millimètre de large.

Le système excréteur comprend un réseau excréteur sous-cutané, constitué par des canalicules très fins, remplis de petits corpuscules calcaires sphériques de 0,0044 millimètre de diamètre et de cinq canaux longitudinaux. Le canal excréteur longitudinal médian prend naissance de deux canalicules qui longent les parties latérales du pharynx. Il descend jusqu'au niveau du bord antérieur de l'appareil de fixation ; ici il donne naissance à des fins canalicules qui pénètrent dans cet appareil. Au niveau du bord postérieur de cet appareil, le canal excréteur longitudinal médian se transforme en un canal unique plus fin qui, à la limite des deux portions du corps, se bifurque de nouveau en deux branches qui descendent dans la portion postérieure du corps et débouchent dans un pore excréteur placé à son extrémité terminale. Les deux canaux excréteurs longitudinaux latéraux internes prennent leur origine chacun par une anse, qui communique avec le canal excréteur longitudinal médian peu en arrière de la bifurcation de l'œsophage; ces canaux longent du côté externe les branches intestinales jusqu'au niveau du bord antérieur de l'appareil de fixation, où ils s'unissent avec le réseau excréteur sous-cutané. Assez souvent, les canaux excréteurs longitudinaux latéraux internes se superposent aux branches intestinales et les cachent presque complètement. Les deux canaux excréteurs longitudinaux latéraux externes montent un peu plus haut que les internes, ils se recourbent vers la ligne médiane pour s'anastomoser avec les branches antérieures du canal excréteur longitudinal médian, et puis ils descendent au voisinage des bords latéraux du corps, presque au même niveau que les canaux excréteurs longitudinaux latéraux internes, où ils s'unissent avec le réseau excréteur sous-cutané. Les canaux excréteurs longitudinaux latéraux externes communiquent pendant leur trajet avec les canaux excréteurs

longitudinaux internes et avec le réseau excréteur sous-cutané. Tous ces canaux excréteurs sont bourrés de corpuscules calcaires sphériques mesurant 0,013-0,018 millimètre de diamètre, qui se déplacent à l'intérieur des canaux pendant les mouvements du parasite.

En comparant maintenant les caractères morphologiques de cette métacercaire avec ceux des jeunes exemplaires non ovigères de *Proalaria confusum*, nous voyons qu'ils sont assez semblables. Conséquemment, nous considérons cette métacercaire comme appartenant à *Proalaria confusum* et nous proposons pour elle le nom de *Diplostomum confusum, n. sp.*

RÉSUMÉ

Les contributions d'ordre morphologique contenues dans ce travail peuvent être résumées comme suit :

Nous avons montré que *Neascus cuticola* (V. Nordmann, 1832) ne représente pas la métacercaire d'Apharyngostrigea cornu, comme l'admettaient Scheuring et Eversbusch, mais la métacercaire d'un trématode du genre *Neodiplostomum Railliet*.

De même nous avons montré que les trématodes trouvés par Scheuring et Eversbusch dans l'intestin du héron cendré n'étaient pas des stades évolutifs d'*Apharyngostrigea cornu*, mais ils représentaient une espèce distincte appartenant au genre *Neodiplostomum Railliet*, que nous avons nommée *Neodiplostomum cuticola, n. sp.*

Nous avons donné une description complète de la *Proalaria trilobum*, qui était jusqu'à présent un trématode très peu connu.

Nous nous sommes occupé en plus de la constitution histologique du complexus glandulaire de l'appareil de fixation de quelques *Strigeidae*, en montrant qu'il est composé par deux catégories de cellules : les unes pourvues de petits noyaux qui se colorent d'une façon plus intense, situées soit seulement dans la glande proprement dite de l'appareil de fixation *(Neodiplostomum perlatum, Proalaria trilobum, Proalaria confusum)*, soit dans la glande et dans l'épaisseur de l'appareil de fixation en même temps *(Neodiplostomum cuticola)* ; et une seconde catégorie de cellules pourvues de noyaux plus grands se colorant plus faiblement, située dans l'épaisseur de l'appareil de fixation.

En ce qui concerne les métacercaires, nous avons trouvé deux espèces nouvelles que nous avons dénommées *Diplostomum tri-*

lobum, appartenant à *Proalaria trilobum* et *Diplostomum confusum*, appartenant à *Proalaria confusum*.

Nous avons attiré l'attention sur le fait que les métacercaires *Neascus cuticola, Neascus perlatus, Diplostomum trilobum* et *Diplostomum confusum* sont plus grands que leurs premiers stades évolutifs. Nous attribuons cette particularité à la présence de l'énorme quantité de corpuscules calcaires dans leur système excréteur, jouant le rôle d'un squelette interne, qui maintiendrait le corps de la métacercaire dans un certain état de distension.

Avec le bienveillant concours de M^lle^ Damboviceanu, nous avons pu déterminer que les corpuscules contenus dans l'intérieur des canaux excréteurs de quelques métacercaires de *Strigeidae* sont constitués par du carbonate de chaux.

Il résulte de l'étude morphologique que nous avons entreprise sur la glande de l'appareil de fixation chez les métacercaires de *Strigeatoïdea* des types *Neascus* et *Diplostomum*, que cette glande se présente avec un aspect particulier chez les différentes espèces. Ce fait est important à un double point de vue : il nous permet d'abord la différenciation des métacercaires entre elles; il nous sert en plus pour l'identification de ces métacercaires, comparativement à leur état adulte, dans les cas où on trouve chez le même hôte une infestation avec le même trématode à des stades évolutifs différents.

Il résulte de nos recherches relatives à la constitution histologique du complexus glandulaire de l'appareil de fixation des métacercaires de *Strigeidae* que la glande proprement dite est représentée soit par une formation unique composée de cellules à petits noyaux foncés *(Neascus cuticola, Neascus perlatus)*, soit par deux formations ou zones, dont l'une antérieure, composée de cellules pourvues de gros noyaux pâles, et l'autre postérieure, composée de cellules à petits noyaux foncés *(Diplostomum trilobum* et *Diplostrobum confusum)*. Nous avons également montré que les cellules glandulaires situées dans l'épaisseur de l'appareil de fixation sont représentées soit par un seul type, cellules pourvues de gros noyaux *(Neascus perlatus, Diplostomum trilobum* et *Diplostomum confusum)*, soit par deux types, à savoir : cellules à gros noyaux et cellules à petits noyaux *(Neascus cuticola)*.

Nos recherches d'ordre biologique se réfèrent principalement à l'habitat des formes adultes de ces trématodes et de leurs métacercaires, ainsi qu'à l'évolution de deux de ces métacercaires : *Neascus cuticola* et *Diplostomum trilobum*.

L'habitat des trématodes intestinaux en général et celui des *Strigeatoïdea* en particulier, dans les différentes portions de l'intestin, est une question, qui jusqu'à présent n'a pas été suffisamment étudiée. Il résulte de nos recherches sur *Neodiplostomum cuticola, Proalaria trilobum* et *Proalaria confusum,* de même que sur *Prohemistomum appendiculatum, Proalaria clavata* et *Neodiplostomum perlatum,* que ces *Strigeatoïdea* habitent spécialement le tiers antérieur de l'intestin, avec très peu d'exceptions *(Proalaria trilobum).* Très rarement, on peut trouver quelques exemplaires parasitant le tiers moyen et encore plus rarement le tiers postérieur.

Nous avons trouvé la métacercaire de *Proalaria trilobum, Diplostomum trilobum,* dans la musculature des poissons Cyprinoïdes suivants : *Tinca tinca, Blicca björkna, Idus idus* et *Leuciscus rutilus*; et la métacercaire de *Proalaria confusum, Diplostomum confusum,* dans la musculature des Cyprinoïdes et Percoïdes suivants : *Scardinius erythrophthalmus, Blicca björkna, Perca fluviatilis* et *Mugil saliens.*

Il résulte enfin de ces recherches, que *Neodiplostomum cuticola,* deux jours après l'infestation, devient ovigère, tandis que *Proalaria trilobum* ne devient ovigère que trois jours après l'infestation.

BIBLIOGRAPHIE

Brandes (G.) 1890 : « Die Familie der Holostomiden. » (*Zool. Jahrbücher, Abt. f. Syst.,* V, pp. 549-604, pl. XXXIX-XLI.)

Bremser (J.-G.) (1824) : « Icones helminthum systema Rudolphi entozoologicum illustrantes. » (18 *Taf., fol., Wien,* 1824, cité par Krause.)

Ciurea (I.) (1911) : « Die Perlhoslostomumkrankheit des Karpfens *(Holostomiasis perlata).* Eine bisher unbekannte parasitäre Erkrankung beim Karpfen. » (*Zeitschr. f. Fleisch u. Milch. hyg.,* XXI, pp. 1-3, pl. I, fig. 1-3.)

— (1917) : « Die Auffindung der Larven von *Opisthorchis felineus, Pseudamphistomum danubiense* und *Metorchis albidus* und die morphologische Entwicklung dieser Larven zu den geschlechtsreifen Würmer. » (*Zeitschr. f. Infektionskr. d. Haustiere,* XVIII, pp. 301-357, pl. I-V, fig. 1-21.)

— (1924) : Heterophyidés de la faune parasitaire de Roumanie. » (*Parasitology,* XVI, pp. 1-21, pl. I-V, fig. 1-19.)

— (1927) : « Contribution à l'étude morphologique de *Strigea cornu (Rud.).* » (*Bull. de la Sect. scient. de l'Acad. roumaine,* XI, pp. 12-16, pl. I-II, fig. 1-5.)

— (1928) :« *Rossicotrema donicum Skrjabin* et *Lindtrop* et sa métacercaire. » (*Archives roum. de Path. exp. et de Microbiol.,* I, pp. 531-539, pl. I, fig. 1-7.)

— (1929) : « Sur une infestation parasitaire de la carpe causée par la métacercaire d'un trématode du genre *Neodiplostomum Railliet.* » (*Bull. de la Sect. scient. de l'Acad. roumaine,* XII, pp. 28-41, pl. I-V, fig. 1-11.)

— (1930) : « Despre câțiva viermi paraziți cu care omul, mamiferele și

paserile se pot infesta de la peștii din bălțile Dunărei. » (*Revista Stiințelor veterinare,* XI, p. 1-12, fig. 1-44.)

Diesing (C.-M.) (1850) : « Systema Helminthum. » (I, Wien., cité par Krause.)

Dubois (G.) (1929) : « Les cercaires de la région de Neuchâtel. » *Bull. de la Soc. neuchât. des Sciences naturelles,* LIII, pp. 1-160, pl. I-XVIII, fig. 1-106.)

Hughes R.-C.) (1928) : « Studies on the trematode family *Strigeidae (Holostomidae),* n° IX, *Neascus Van-Cleavei* (Agersborg). » (*Transactions of the American mic. society,* XLVII, n° 3, july, pp. 320-336, pl. I-III, fig. 1-11.)

Krause (R.) (1914) : « Beitrag zur Kenntnis der Hemistominen. » (*Zeitsch. f. wiss. Zoologie,* CXII, pp. 93-238, pl. VI, fig. I-8.)

La Rue (G.-R.) (1926) : « Studies on the trematodes family *Strigeidae (Holostomidae)* n° 11. Taxonomy. » (*Transactions of the Americ. Microscop. Society,* XLV, pp. 11-19.)

V. Nordmann (A.) (1832) : *Mikrographische Beit. zur Naturgeschichte der wirbellose Thiere.* » (Erstes Heft, Berlin.)

Prettenhoffer (Z.) (1930) : *Kísérleti vizsgálatok dunai halakban élősködő trematoda-lárvák hazai előfordulásáról,* thèse de l'Ecole de Méd. vét. de Budapest, pp. 1-17, fig. 1-4.

Rudolphi (K.-A.) (1819) : *Entozoorum synopsis cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi,* Berlin, cité par Krause.

Scheuring (L.) et Eversbusch (E.) (1926) : « Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Strigea (Holostomum) cornu Rud.* » (*Zool. Anz.,* 66, pp. 41-54, fig. 1-7.)

Szidat (L.) (1929) : « Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Strigea* (Abildg.) » (*Zeitschr. f. Parasitenkunde,* I, pp. 612-764, fig. 1-35.)

— (1929) : « Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Holostomiden. III. Ueber zwei Tetracotylen aus Hirundineen und ihre Weiterentwicklung in Enten zur *Cotylurus cornutus Rud.* und *Apotemon gracilis Rud.* » (*Zool. Anz.,* 86. pp. 133-149, fig. 1-7.)

Wedl (R.) (1857) : « Anatomische Beobachtungen über Trematoden. » (*Sitzber. d. k. Akad. der Wissenschaft., math.-naturw. Cl.,* 26, Teil I, Wien, cité par Krause.)

EXPLICATION DES PLANCHES

Les figures 6-8, 23 et 29 ont été dessinées d'après nature, les figures 21, 22, 36 et 43 sont des photographies, les figures 44-53 sont des microphotographies, les autres ont été dessinées avec la chambre claire. La figure 29 a été dessinée d'après du matériel frais, les autres d'après du matériel conservé.

ABRÉVIATIONS USITÉES

Af, Appareil de fixation.
Bc., Bourse copulatrice.
Bi., Branche intestinale.
C., Corpuscule calcaire.
Cbc., Cloche de la bourse copulatrice.
Ce., Canal excréteur.
Cel., Canal excréteur longitudinal latéral.
Cele., Canal excréteur longitudinal latéral externe.
Celi, Canal excréteur longitudinal latéral interne.
Cem., Canal excréteur longitudinal médian.
Celp., Canal excréteur longitudinal postérieur.
Cgc., Couche glandulaire centrale de l'appareil de fixation.
Cgp., Couche glandulaire périphérique de l'appareil de fixation.
Cj., Canal éjaculateur.
CL, Canal de Laurer.
Cn., Cellules glandulaires à petits noyaux foncés.
CN., Cellules glandulaires à gros noyaux pâles.
Cnp., Cellules glandulaires à petits noyaux pâles.
CNp., Cellules glandulaires à gros noyaux ayant l'apparence d'une gonidie.
Dt., *Diplostomum trilobum*.
Eo., Ebauche de l'ovaire.
Et1, *Et2*, Ebauches des testicules.
Fv., Follicules vitellogènes.
Gaf., Glande de l'appareil de fixation.
Gza., Zone antérieure de la glande de l'appareil de fixation.
Gzm., Zone moyenne de la glande de l'appareil de fixation.
Gzp., Zone postérieure de la glande de l'appareil de fixation.
Lmd., Lobe médian dorsal de la cloche de la bourse copulatrice.
MAm., Métacercaire *d'Apophallus Mühlingi*.
MOf., Métacercaire d'*Opisthorchis felineus*.
MP., Métacercaire de *Prohemistomum*.
MRd., Métacercaire *de Rossicotrema donicum*.
Nck., *Neascus cuticola* enkysté.
Npk., *Neascus perlatus* enkysté.
O., Ovaire.
Of., Œufs.
P., Papille génitale.
Pe., Pore excréteur.
Pv., Pseudo-ventouse céphalique.
Re., Réseau excréteur sous-cutané.
Rep., Réseau excréteur en forme de papillon.
T1, *T2*, Testicules.
Va., Ventouse abdominale.
Vb., Ventouse buccale.
Vs., Vésicule séminale.

PLANCHE I.

FIG. 1. — *Apharyngostrigea cornu (Gze, Zeder)* non ovigère, exemplaire très jeune, de l'intestin d'*Ardea cinerea*, vue par la face ventrale. × 79.

FIG. 2-4. — *Apharyngostrigea cornu* non ovigère dans différents stades d'évolution, de l'intestin d'*Ardea cinerea*, vues par la face latérale gauche. × 79.

FIG. 5. — *Apharyngostrigea cornu* ovigère, de l'intestin d'*Ardea cinerea*, vue par la face latérale droite. × 79.

PLANCHE II.

FIG. 6. — *Blicca björkna (L.)*, dont les nageoires, la peau et la musculature sont infestés par des *Neascus cuticola v. Nordmann* enkystés (Nck). Grandeur naturelle.

PLANCHE III.

FIG. 7. — Rotangle [*Scardinius erythrophthalmus (L.)*], dont les nageoires et la peau sont infestés par *Neascus cuticola* enkysté (Nck) et la métacercaire d'*Apophallus Mühlingi* (MAm.). Grandeur naturelle.

PLANCHE IV.

FIG. 8. — *Lucioperca volgensis (Pall.)*, dont les nageoires et la peau sont infestés par des métacercaires de *Rossicotrema donicum* (MRd.). Grandeur naturelle.

PLANCHE V.

FIG. 9. — *Neascus cuticola* enkysté. × 26.

FIG. 10. — *Neascus perlatus* enkysté (capsule interne) vu par la face dorsale. × 38.

FIG. 11. — *Neascus perlatus* libre, en état de repos dans une goutte d'eau, vu par la face ventrale. × 38.

FIG. 12. — *Diplostomum trilobum* enkysté. × 29.

FIG. 13. — *Diplostomum trilobum* libre, en état de repos dans une goutte d'eau. × 24.

FIG. 14. — *Diplostomum trilobum* libre, en état d'allongement dans une goutte d'eau. × 26.

FIG. 15. — *Diplostomum confusum* enkysté. × 29.

FIG. 16. — *Diplostomum confusum* libre, en état de repos dans une goutte d'eau. × 25.

PLANCHE VI.

FIG. 17. — *Neascus cuticola* coloré avec du carmin aluné, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 18. — *Neodiplostomum cuticola* âgé de quarante-huit heures, ovigère de l'intestin de *Nycticorax nycticorax*, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 19. — *Neodiplostomum cuticola* adulte, cloche génitale invaginée, intestin d'*Ardea cinerea*, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 20. — *Neodiplostomum cuticola* adulte, cloche génitale fait saillie en dehors, intestin d'*Ardea cinerea*, vu par la face dorsale. × 79.

Planches VII et VIII.

Fig. 21 et 22. — Mouettes rieuses *(Larus ridibundus)* et Bihoreaux d'Europe *(Nycticorax nycticorax)*. Etang Serbanu (département Braïla).

Planche IX.

Fig. 23. — Carpe *(Cyprinus carpio L.)*, dont les nageoires, la peau et la musculature sont infestés par de *Neascus perlatus* enkystés (Npk.). Grandeur naturelle.

Planche X.

Fig. 24. — *Neodiplostomum cuticola* adulte, cloche génitale, fait un peu saillie en dehors, intestin d'*Ardea cinerea*, vu par la face centrale. × 79.

Fig. 25. — *Neascus perlatus* coloré avec du carmin aluné, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 26. — *Neodiplostomum perlatum* âgé de vingt-quatre heures, intestin d'*Haliaetus albicilla*, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 27. — *Neodiplostomum perlatum* âgé de soixante-douze heures, intestin d'*Haliaetus albicilla*, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 28. — *Neodiplostomum perlatum* adulte, intestin d'*Haliaetus albicilla*, vu par la face ventrale. × 79.

Planche XI.

Fig. 29. — Tanche [*Tinca tinca (L.)*], dont la musculature est infestée par *Diplostomum trilobum* et par des métacercaires d'*Opisthorchis felineus* et de *Prohemistomum*. Grandeur naturelle.

Planche XII.

Fig. 30. — *Diplostomum trilobum* coloré avec du carmin aluné, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 31. — *Diplostomum trilobum* coloré avec du carmin aluné, vu par la face dorsale. × 79.

Fig. 32. — *Proalaria trilobum* âgé de quarante-huit heures, non ovigère, intestin du cormoran ordinaire *(Phalacrocorax carbo L)*, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 33. — *Proalaria trilobum* âgé de soixante-douze heures, ovigère, intestin du *Phalacrocorax pygmeus (Pall)*, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 34. — *Proalaria trilobum* adulte, appareil de fixation contracté, intestin du *Phalacrocorax carbo*, vu par la face ventrale. × 79.

Fig. 35. — *Proalaria trilobum* adulte, appareil de fixation fortement projeté en avant, intestin du *Phalacrocorax carbo*, vu par la face ventrale. × 79.

Planche XIII.

Fig. 36. — Cormorans dans les saules sur les bords du canal Filipoïu, à l'endroit où il sort de l'étang Serbanu.

PLANCHE XIV.

FIG. 37. — *Diplostomum confusum* coloré avec du carmin aluné, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 38. — *Diplostomum confusum* coloré avec du carmin aluné, vu par la face dorsale. × 79.

FIG. 39. — *Proalaria confusum*, non ovigère, exemplaire très jeune, intestin du *Pelecanus crispus*, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 40. — *Proalaria confusum*, non ovigère, intestin du *Pelecanus crispus*, vu par la face ventrale. × 79.

FIG. 41. — *Proalaria confusum*, ovigère, intestin du *Pelecanus crispus*, vu par la face dorsale. × 79.

FIG. 42. — *Proalaria confusum* adulte, intestin du *Pelecanus onocrotalus*, vu par la face ventrale. × 79.

PLANCHE XV.

FIG. 43. — *Pelecanus onocrotalus*, étang de Murighiol (département Tulcea).

PLANCHE XVI.

FIG. 44. — *Neascus cuticola*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation, coupe frontale. × 361.

FIG. 45. — *Neascus cuticola*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation, coupe sagittale. × 376.

FIG. 46. — *Neascus perlatus*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation. × 299.

FIG. 47. — *Diplostomum trilobum*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation, coupe sagittale. × 376.

FIG. 48. — *Diplostomum confusum*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation, coupe frontale. × 280.

FIG. 49. — *Diplostomum confusum*, glande de l'appareil de fixation et cellules glandulaires de l'épaisseur de l'appareil de fixation, coupe sagittale. × 290.

PLANCHE XVII.

FIG. 50. — *Neodiplostomum cuticola*, d'*Ardea cinerea*, extrémité postérieure du corps, coupe sagittale. × 258.

FIG. 51. — *Neodiplostomum cuticola* d'*Ardea cinerea*, bourse copulatrice, coupe transversale. × 307.

FIG. 52. — *Proalaria trilobum* du cormoran, extrémité postérieure du corps, coupe sagittale. × 257.

FIG. 53. — *Proalaria confusum* du pélican, extrémité postérieure du corps, coupe sagittale. × 258.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
TOME III. — N° 3. — 1930.

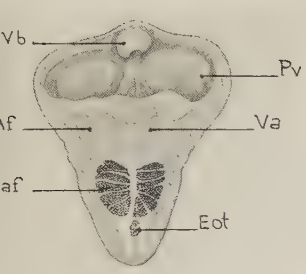


FIG. 1.

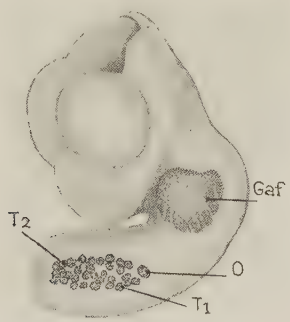


FIG. 2.

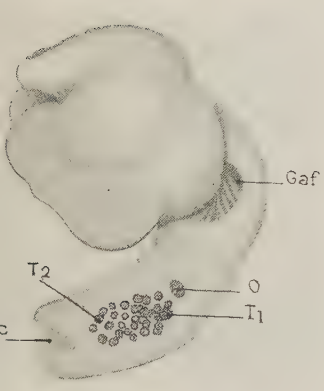


FIG. 3.

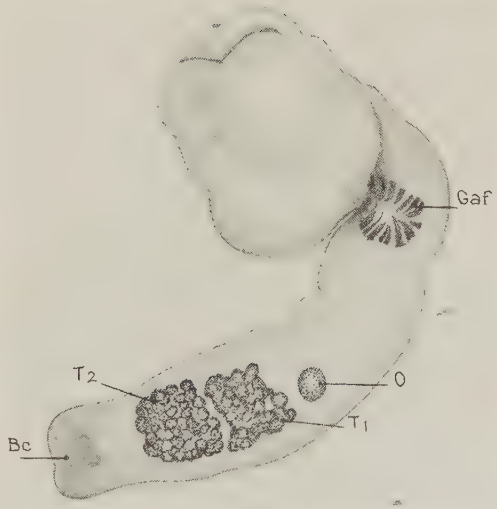


FIG. 4.

FIG. 5.

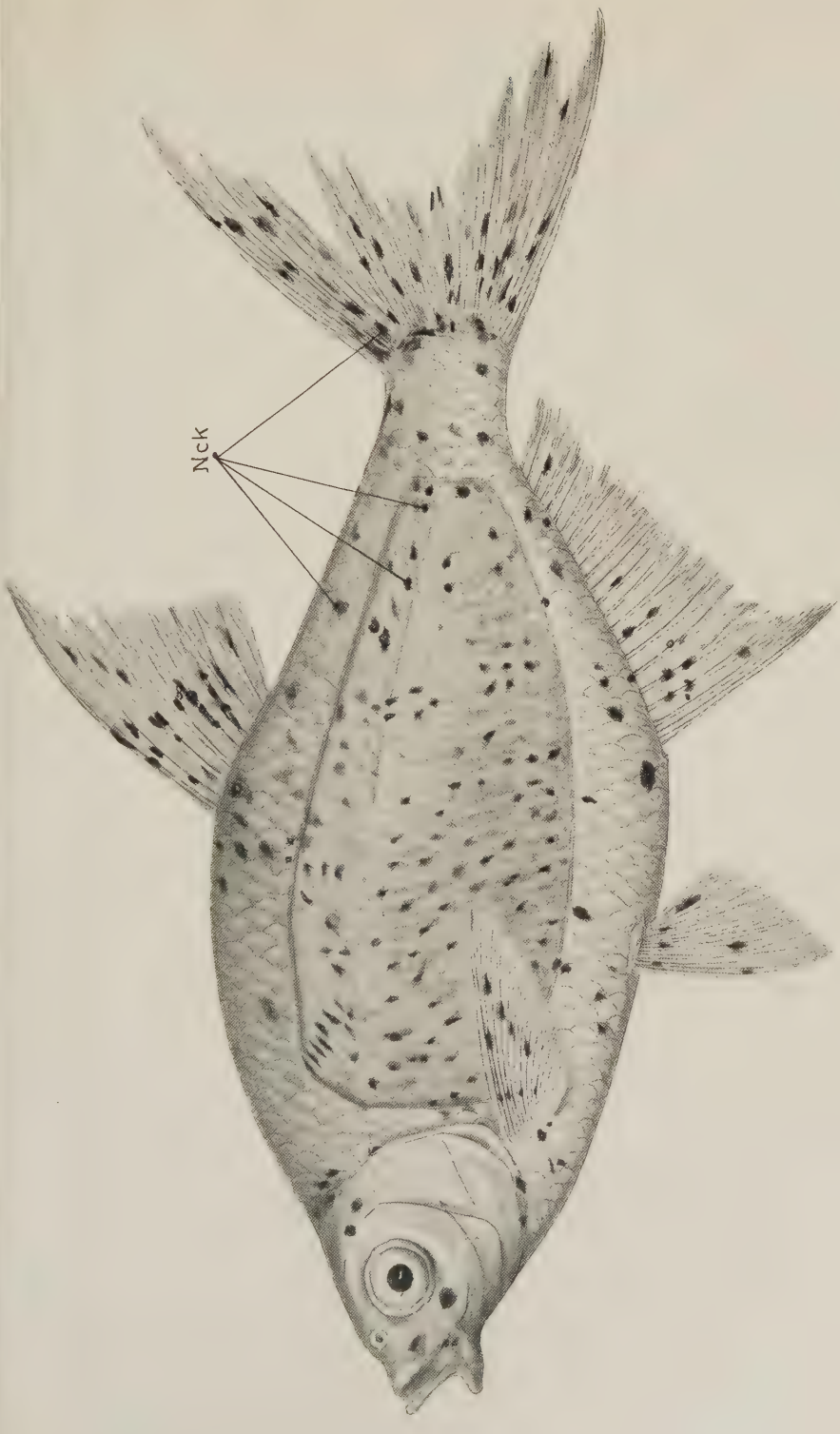


Fig. 6.
Blicca björkna (L.) dont les nageoires, la peau et la musculature sont infestés par des Neascus cuticola (v. Nordmann) enkystés (*Nck*). Grandeur naturelle.

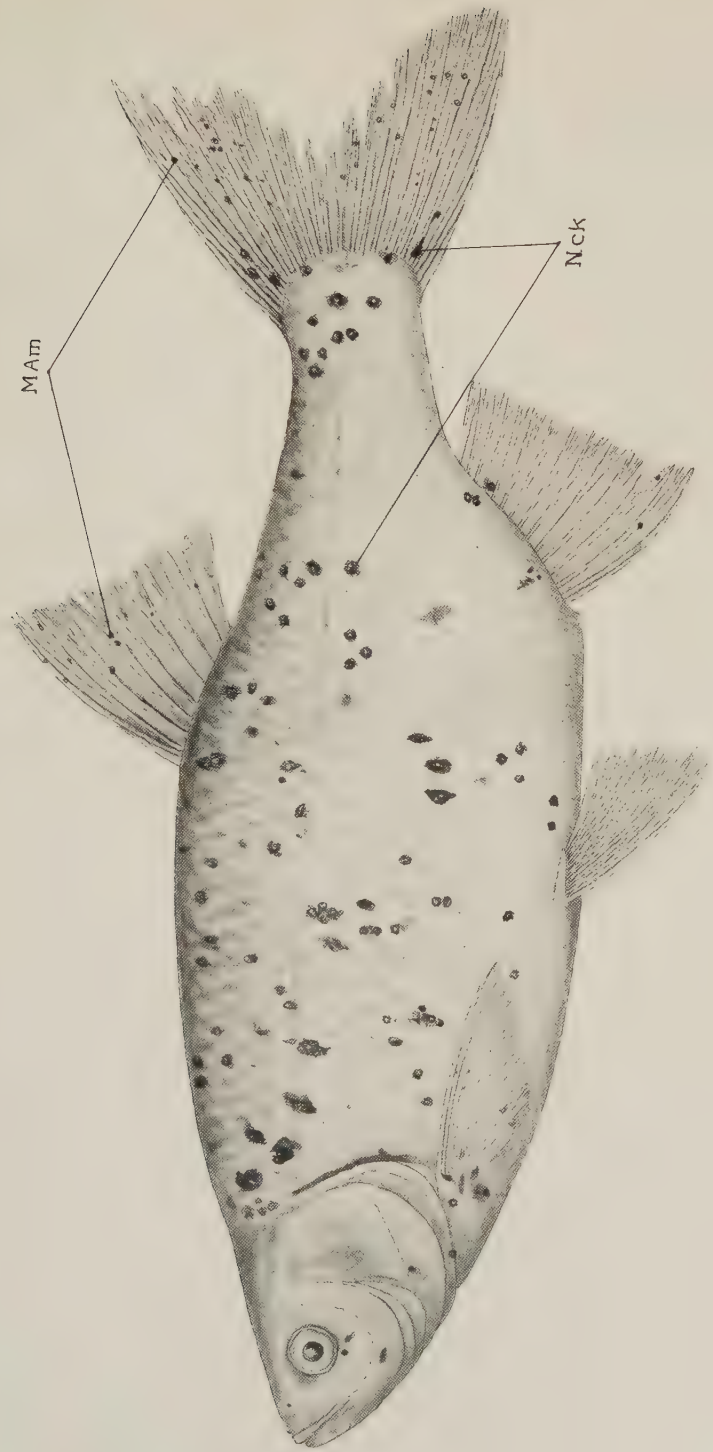


FIG. 7.
Rotangle dont les nageoires et la peau sont infestées par Neaseus cuticola enkystés (*NCk*) et la métacercaire d'Apophallus Mühlingi (*MAm*). Grandeur naturelle.

MASSON & C^ie^, ÉDITEURS

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
TOME III. — N° 3. — 1930.

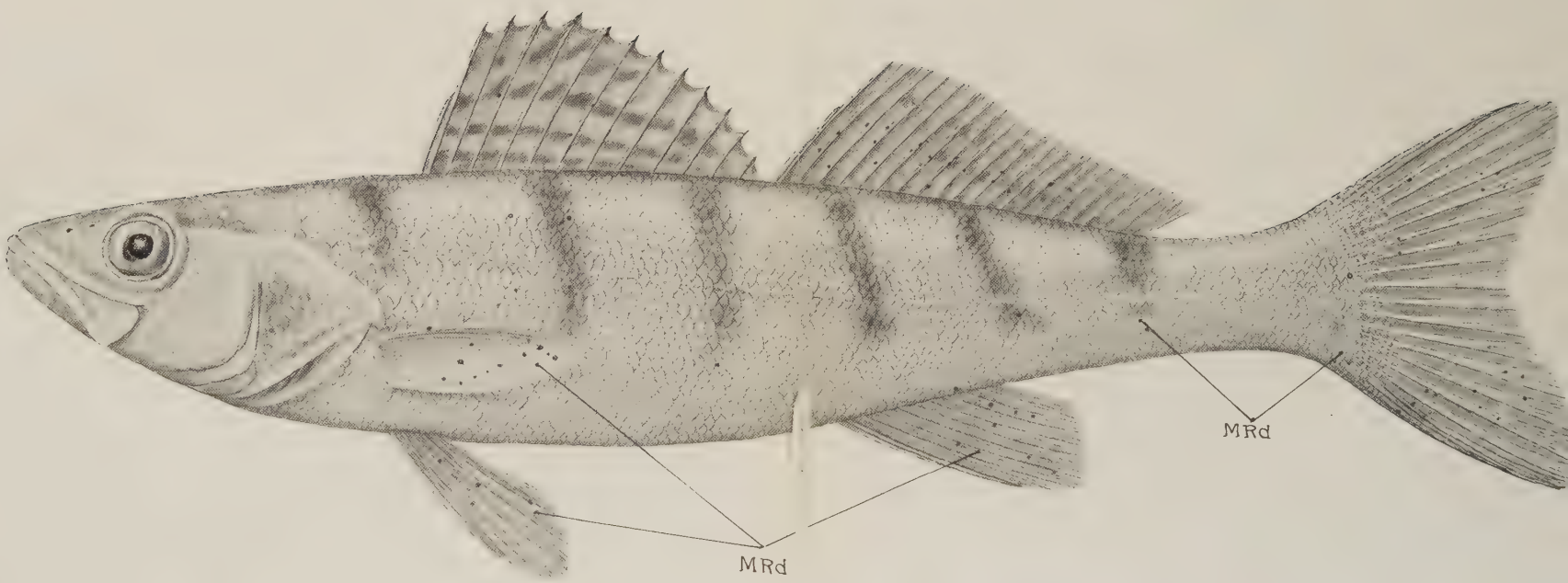


FIG. 18.

Lucioperca volgensis (Pall.) dont les nageoires et la peau sont infestées par des métacercaires de Rossicotrema donicum *(MRd)*. Grandeur naturelle.

MASSON & [illegible], ÉDITEURS

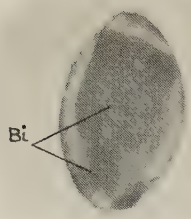


FIG. 9.

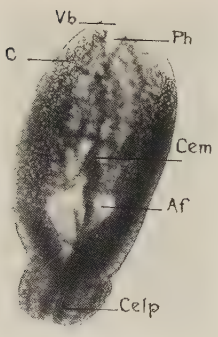


FIG. 11.

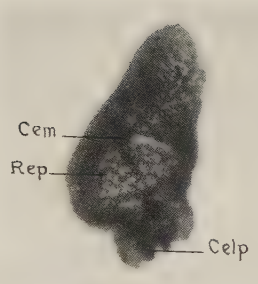


FIG. 10.

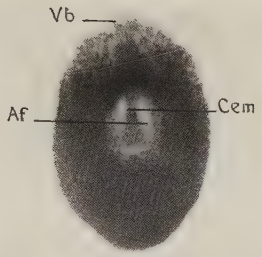


FIG. 13.

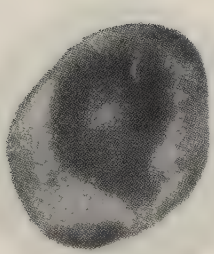


FIG. 12.

FIG. 14.

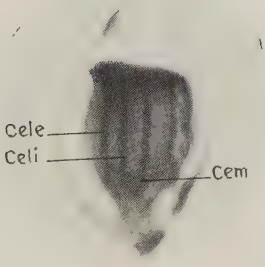


FIG. 15.

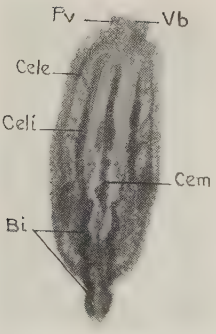


FIG. 16.

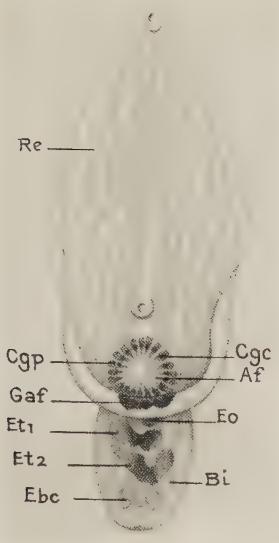


FIG. 17.

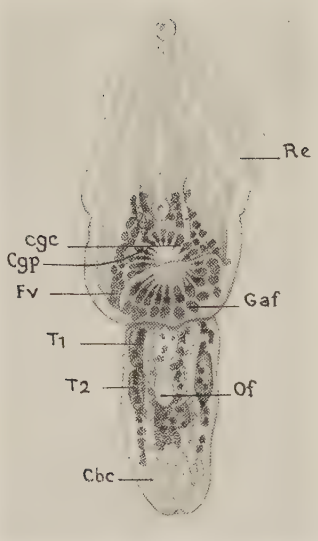


FIG. 18.

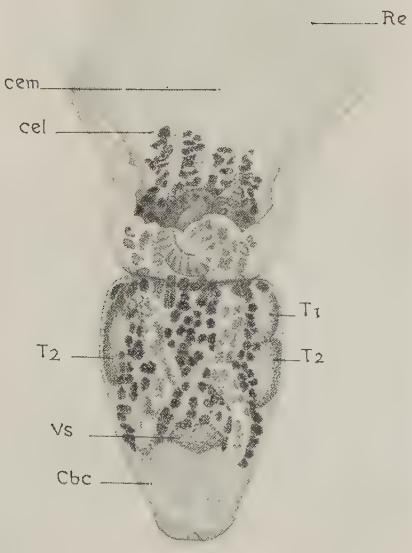


FIG. 19.

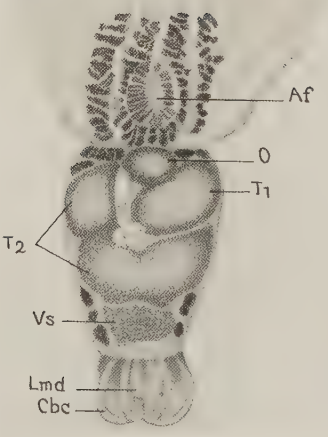


FIG. 20.

Fig. 21.
Mouettes rieuses et Bihoreaux d'Europe. Etang Serbanu (département Brăila).

MASSON & Cie, Éditeurs

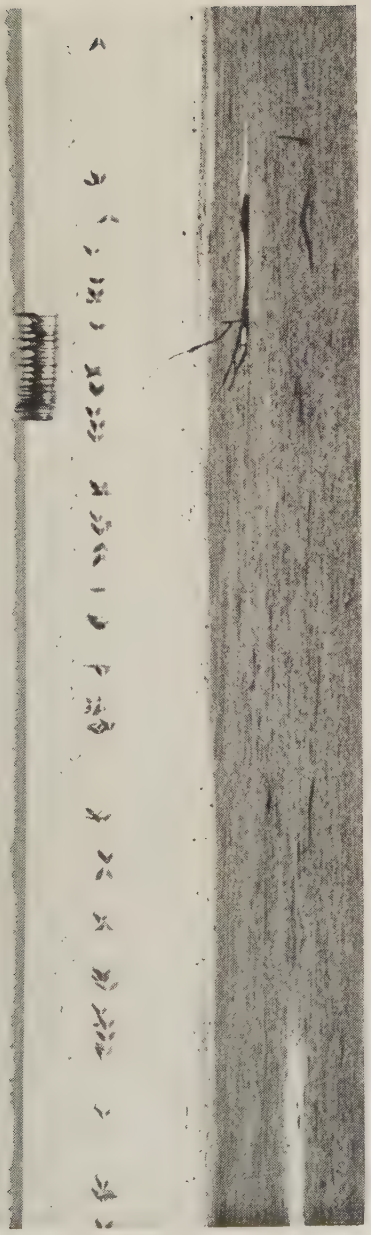


Fig. 22.
Mouettes rieuses et Bihoreaux d'Europe. Etang Serbanu (département Braïla).

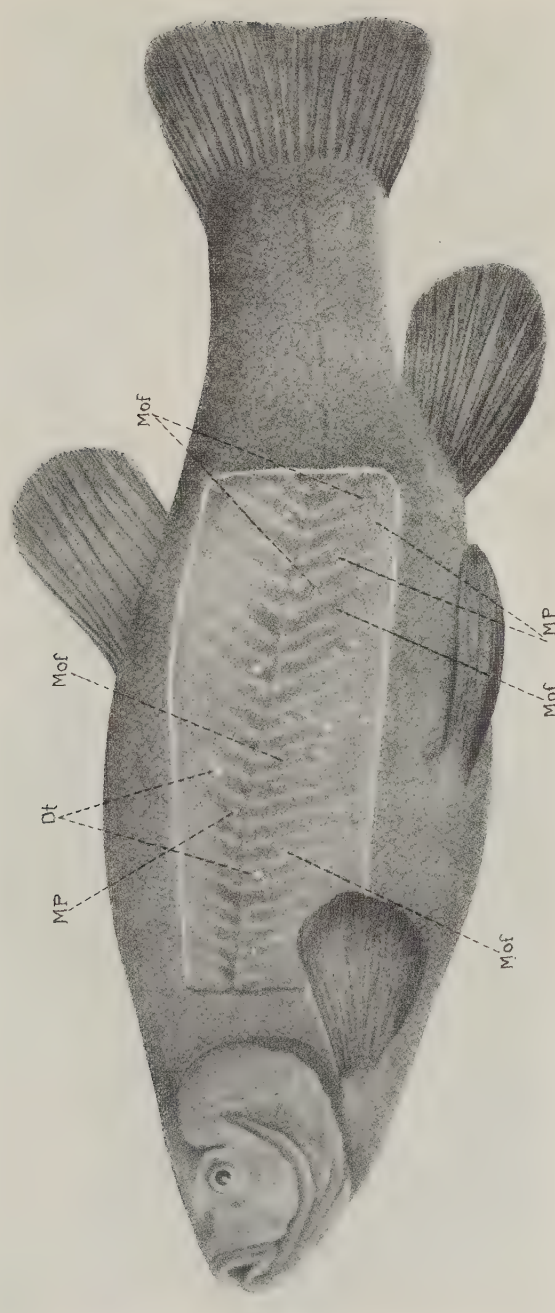


FIG. 29.
Tanche dont la musculature est infestée par Diplostomum trilobum *(Dt)* et par des métacercaires d'Opisthorchis felineus *(MOf)* et de Prohemistomum *(MP)*. Grandeur naturelle.

Fig. 36.
Cormorans dans les saules sur les bords du canal Filipoïu, à l'endroit où il sort de l'étang Serbanu.

Fig. 43.
Pelecanus onocrotalus. Etang de Murighiol (département Tulcea).

L'ÉTUDE DE LA GLYCÉMIE DANS LA SPIROCHÉTOSE DES GALLINACÉS

par

G. ZOTTA et E. RADACOVICI

(Travail du Laboratoire de Parasitologie de l'Institut de Sérologie : Prof. J. Cantacuzène, de Bucarest.)

On sait que, dans plusieurs mémoires, K. Schern a soutenu, en ce qui concerne la pathogénie de la trypanosomiase, la thèse suivant laquelle cette maladie devrait être considérée comme une maladie de carence en sucre; et cette carence serait elle-même l'effet de la consommation directe du glucose par les trypanosomes dans le sang. L'image clinique de ce phénomène serait donc une hypoglycémie caractérisant la période d'état de la trypanosomiase.

Nous avons, dans un mémoire paru dans ces *Archives* mêmes (1), soumis à un examen serré cette manière de voir, en étudiant le métabolisme du glucose chez le cobaye nagané. Nos expériences nous ont conduits à des résultats opposés à ceux de K. Schern, car nous n'avons jamais constaté d'hypoglycémie à la période d'état chez les cobayes. Tout au plus, il y avait une chute brusque du taux du glucose dans le sang à la période préagonique et agonique. Et, encore, cette hypoglycémie agonique n'était pas du tout, d'après nos recherches, spécifique à la trypanosomiase, puisque le même phénomène se produit dans plusieurs autres maladies bactériennes à l'approche de la mort.

En dehors de la trypanosomiase, Schern a soutenu la même thèse dans la spirochétose aviaire. Comme les documents apportés par Schern à l'appui de sa manière de voir (2) dans la spirochétose ne nous ont pas semblé satisfaisants, nous avons entrepris

(1) G. Zotta et E. Radacovici : « Contributions à l'étude du métabolisme du glucose sanguin dans la trypanosomiase expérimentale. » (*Arch. roum. Path. expérim. et de Microbiol.*, t. II, n° 1, mars 1929, p. 55.)

(2) Schern (K.) : « Trypanosomiasen und Spirochäten als glykopenische Infektionen nebst Bemerkungen über eine « ergänzende Zellkomplextherapie.» (*Deutsche Tierärztl. Woch.* Jahrgang 35, 1927, p. 283.)

aussi l'étude de la marche de la glycémie dans la spirochétose expérimentale des poules.

Ce sont les résultats de ces expériences que nous rapportons ici. Nous pouvons faire remarquer dès maintenant que, dans la spirochétose des poules, nous n'avons pas trouvé d'hypoglycémie à la période d'état. De plus, comme dans presque tous nos cas, les oiseaux ont survécu à leurs infections ; nous n'avons jamais eu l'occasion de constater l'état de la glycémie à la période préagonique ou agonique.

MATERIEL ET TECHNIQUE

Nos expériences ont été faites sur des poules et coqs adultes. La source des spirochètes provenait d'un cas d'infection spontanée d'un oison pendant l'été de 1929. Cette source a été entretenue par repiquage réguliers de petits poussins sur lesquels nous faisions les prélèvements de sang nécessaires pour les infections expérimentales (prélèvement du sang de la crête ; inoculation dans les muscles pectoraux d'environ un demi-centimètre cube de sang). Pour chacun des oiseaux expérimentés, on dosait le glucose du sang pendant plusieurs jours consécutifs à jeun et avant l'inoculation, pour établir les limites de la glycémie normale. Ce n'est qu'une fois ces limites normales établies qu'on inoculait les oiseaux. Les dosages du glucose continuaient à être faits rigoureusement chaque jour pendant toute la période d'incubation, pendant toute la période d'état et pendant quelques jours après la disparition totale des spirochètes du sang. En même temps, on prenait la température rectale deux fois par jour; les animaux étaient pesés chaque jour avant la prise du sang. Le sang des oiseaux inoculés était examiné à l'ultra-microscope chaque jour à partir du lendemain de l'inoculation, jusqu'à la fin de l'expérience.

Nous nous sommes servis, pour doser le glucose sanguin, de la méthode de Bang, mise au point par H. Labbé et Nepveux. Le sang à doser était pris à la crête avec la pipette de Weiss. Les prises de sang étaient faites régulièrement chaque jour, à jeun, entre 4 à 5 heures de l'après-midi, soit huit heures après le dernier repas, qui avait lieu le matin à 7 h. 1/2. La nourriture était normale et consistait en grains de maïs et d'orge.

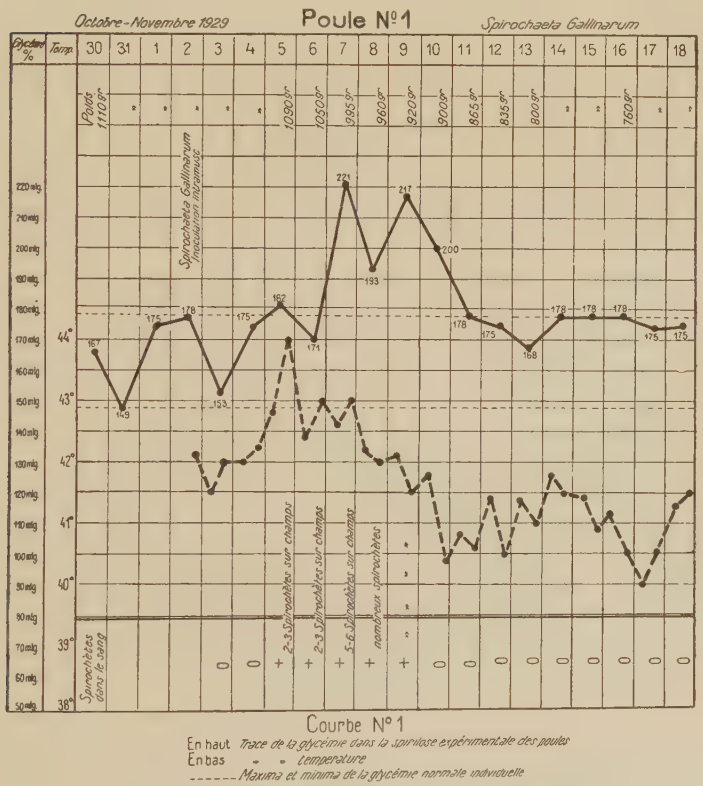
Chaque expérience comportait deux oiseaux à la fois. Dans ce

qui suit, nous exposerons les protocoles de nos expériences avec les conclusions qu'elles comportent.

Poule n° 1 (tracé n° 1)

Poule adulte normale, poids 1110 grammes.
Glycémie normale à jeun :

30 octobre 1929.....	167	mgr. %
31 — —	149	—
1er novembre 1929.....	175	—
2 — —	178	—


Octobre-Novembre 1929
Poule N°1
Spirochaeta Gallinarum
Glycémie %
Temp.
30 31 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18
Poids 1110gr.
1090gr. 1050gr. 1055gr. 960gr. 920gr. 900gr. 865gr. 835gr. 800gr. 760gr.
Spirochaeta Gallinarum inoculation intramuscl.
220 mlg. 210 mlg. 200 mlg. 190 mlg. 180 mlg. 170 mlg. 160 mlg. 150 mlg. 140 mlg. 130 mlg. 120 mlg. 110 mlg. 100 mlg. 90 mlg. 80 mlg. 70 mlg. 60 mlg. 50 mlg.
44° 43° 42° 41° 40° 39° 38°
167 149 175 178 153 175 182 171 221 193 217 200 178 175 158 178 178 178 175 175
2-3 Spirochètes sur champ
2-3 Spirochètes sur champ
5-6 Spirochètes sur champ
nombreux spirochètes
Spirochètes dans le sang
0 0 + + + + + 0 0 0 0 0 0 0 0 0

Courbe N°1

En haut Trace de la glycémie dans la spirilose expérimentale des poules
En bas - - température
------ Maxima et minima de la glycémie normale individuelle

Limites de la glycémie normale : 149-178 mgr. %.

Le 2 novembre, immédiatement après la prise de sang et le dosage du glucose, la poule reçoit dans les muscles pectoraux environ un demi-centimètre cube de sang riche en *Spirochaeta gallinarum*, provenant d'un poussin en pleine évolution de spi-

rochétose. Dès le lendemain, on examinait le sang au microscope au fond noir. Les spirochètes apparaissent dans le sang le 5 novembre, quand ils sont très rares (un à deux pour plusieurs champs microscopiques.

L'apparition des spirochètes dans le sang coïncide avec l'élévation brusque de la température rectale : 42°8 au matin, 44° le soir. Le glucose qui, pendant la période d'incubation, s'était maintenu entre les limites normales, monte à l'apparition des spirochètes à 182 mgr. %. Le lendemain, il revient à 171 mgr. %, pour se maintenir les jours suivants à des valeurs relativement élevées : 221-193-217 mgr. %. Ces chiffres coïncident avec la persistance et l'augmentation du nombre des spirochètes dans le sang.

A partir du 10 novembre, les spirochètes disparaissent du sang et ils ne sont plus réapparus. Néanmoins, on continue à faire l'examen microscopique et les dosages du glucose sanguin encore neuf jours de suite, jusqu'au 18 novembre. A ce moment, on arrête l'expérience, la poule est considérée guérie, elle est gardée encore quelques semaines au laboratoire, sans avoir jamais présenté des spirochètes dans le sang.

Pendant les premiers neuf jours depuis la disparition des spirochètes, le sucre tombe de 200 mgr. % au premier jour, à des valeurs comprises entre les limites de la glycémie normale, soit: 178,5-175-168 mgr. %.

Pendant les cinq jours de persistance des spirochètes dans le sang, la température s'est maintenue élevée autour de 43°.

Le nombre des spirochètes n'a jamais été trop élevé dans le sang. Malgré cela, l'animal a fait une maladie grave avec anémie intense, ictère, diarrhée profuse bilieuse très fétide, avec une odeur caractéristique de pyocyanique, somnolence, inappétence. Le poids est tombé très bas : de 1110 grammes au commencement de l'expérience, la poule pesait 760 grammes à la fin de l'expérience. La rémission est très difficile et lente.

Coq n° 2 (tracé n° 2)

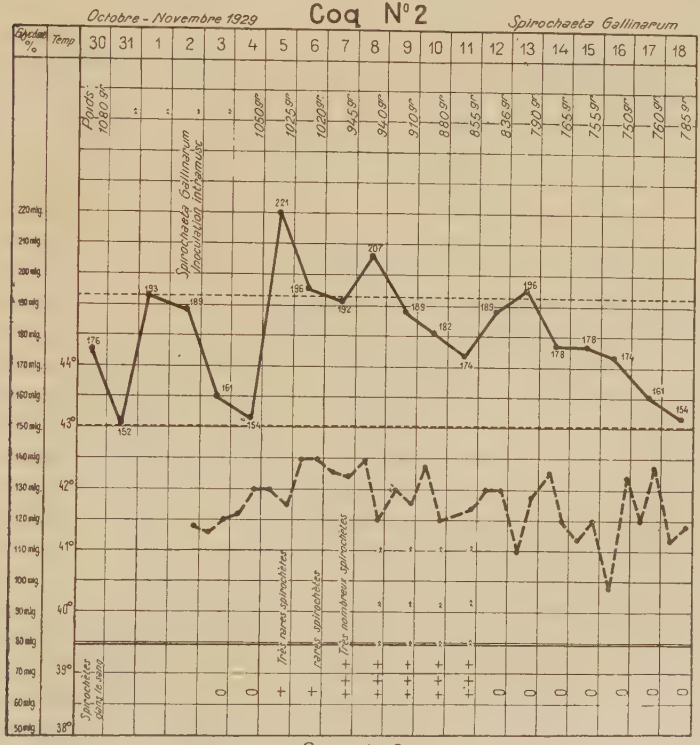
Coq adulte, poids 1080 grammes. Glycémie normale à jeun :

30 octobre 1929	176	mgr. %
31 — —	152	—
1er novembre 1929	193	—
2 — —	189	—

Limites de la glycémie normale : 152-193 mgr. %.

Le 2 novembre, immédiatement après le dosage du glucose sanguin, le coq reçoit environ un demi-centimètre cube de sang riche en spirochètes de même provenance que dans le premier cas.

Les spirochètes apparaissent dans le sang trois jours après l'inoculation (5 novembre 1929) et se maintiennent pendant sept jours (11 novembre 1929). Très rares pendant les premiers deux



Courbe N° 2

En haut. *Tracé de la glycémie dans la spirilose expérimentale des poules*
En bas. " " *Température*
Maxima et minima de la glycémie normale individuelle

jours, ils augmentent régulièrement de nombre jusqu'au 11 novembre. Pendant les quatre premiers jours, les spirochètes sont libres dans le sang; à partir du cinquième jour, ils montrent une tendance vers l'agglutination ; ce phénomène se maintient et s'accentue les jours suivants, quand les grumeaux d'agglutination deviennent de plus en plus considérables. Les spirochètes disparaissent du sang le 12 novembre ; on continue pourtant

leur recherche pendant sept jours consécutifs, toujours avec des résultats négatifs.

La température varie entre 42°-43°.

La glycémie, représentée par 221 mgr. % le jour de l'apparition des spirochètes, se maintient pendant toute la période d'état au-dessus et très près de la limite supérieure de la glycémie normale. Elle se maintient d'une manière très stricte entre les limites de la glycémie normale pendant les sept jours suivant la disparition des spirochètes.

Malgré la très grande densité des spirochètes et malgré leur longue persistance, la forme que la maladie a prise chez ce coq a été moins grave que dans le premier cas, et les phénomènes cliniques, les mêmes que plus haut, ont été plus atténués. La rémission a été aussi plus rapide.

Poule n° 3 (tracé n° 3)

Poule adulte, poids 1650 grammes.

Glycémie normale à jeun :

28	novembre	1929.....	192	mgr. %
29	—	—	192	—
30	—	—	184	—
1er	décembre	—	168	—
2	—	—	178	—
3	—	—	178	—
4	—	—	164	—

Limites de la glycémie normale : 164-192 mgr. %.

Le 4 décembre, immédiatement après la prise de sang, la poule reçoit dans les muscles pectoraux environ un demi-centimètre cube de sang riche en spirochètes de même provenance que plus haut.

Les spirochètes apparaissent dans le sang (trois à quatre par champ microscopique) le quatrième jour après l'inoculation et s'y maintiennent pendant trois jours de suite. Au deuxième ou troisième jour, ils sont devenus très nombreux et en grande partie agglutinés.

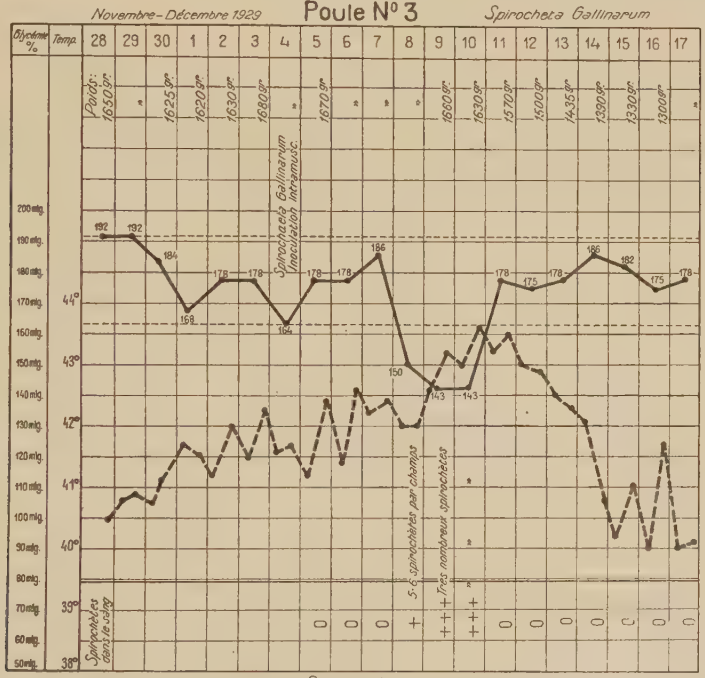
Pendant toute cette période, la température se maintient à une valeur assez haute, atteignant jusqu'à 43°6.

La glycémie se maintient entre les limites normales pendant la période d'incubation. L'apparition des spirochètes dans le sang coïncide avec un abaissement du glucose à 150-143 mgr. %. Après la disparition des spirochètes, ces valeurs reviennent au normal. On continue à rechercher les spirochètes (avec résultat négatif)

et à doser le sucre encore pendant sept jours de suite où le glucose continue à se maintenir entre les limites normales.

Ce cas est caractérisé par la durée très courte (trois jours) des spirochètes dans le sang, mais aussi par leur densité considérable. C'est aussi le seul cas où nous ayons constaté une tendance à l'hypoglycémie.

Au point de vue clinique, la poule a fait une maladie très grave,



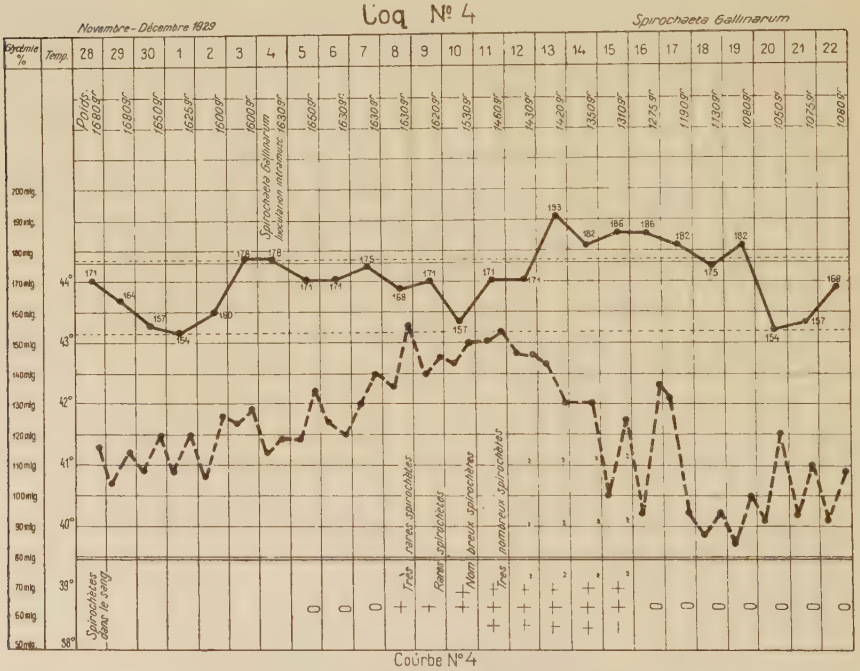
Courbe N° 3

En haut: *Tracé de la glycemie dans la spirilose expérimentale des poules*
En bas " " *temperature*
----- *Maxima et minima de la glycemie normale individuelle*

caractérisée par une anémie très intense, ictère, diarrhée profuse, bilieuse, somnolence, inappétence totale. Le troisième jour après l'apparition des spirochètes, son état devient encore plus grave : on constate une dyspnée très accentuée et une forte cyanose de la crête et des barbettes.

La poule s'est pourtant remise et a continué à vivre sans jamais présenter de récurrence pendant encore quatre mois et demi. A cette époque, elle fait une parésie des pattes. Pensant que

ces phénomènes pourraient être dus à une spirochétose latente, nous avons procédé à la recherche minutieuse des spirochètes. A cet effet, nous sacrifions la poule le 30 mai 1930 et nous recherchons la présence des spirochètes dans le sang et le broyage de cerveau, de foie, de rate et de reins: tous les examens sont restés négatifs. D'autre part, deux poussins inoculés dans les muscles pectoraux avec les mêmes produits de broyage n'ont pas présenté de spirochètes pendant dix jours de suite.



Courbe N° 4

En haut: *Tracé de la glycémie dans la spirillose expérimentale des poules*
En bas : = = = *température*
_____ *Maxima et minima de la glycémie normale individuelle*

Coq n° 4 (tracé n° 4)

Un coq adulte, de 1680 grammes, inoculé en même temps que la poule n° 3, présente avant l'inoculation les valeurs suivantes pour la glycémie à jeun :

28	novembre	1929.....	171 mgr. %
29	—	—	164 —
30	—	—	157 —
1er	décembre	—	154 —
2	—	—	160 —
3	—	—	178 —
4	—	—	178 —

Limites de la glycémie normale : 154-178 mgr. %.

Le 4 décembre, immédiatement après la prise de sang, le coq reçoit dans les muscles pectoraux un demi-centimètre cube de sang virulent.

Les spirochètes apparaissent dans le sang quatre jours après l'inoculation. Ils continuent à persister pendant huit jours, en se maintenant toujours en nombre très grand. Presque tout le temps, ils sont restés libres ; ce n'est qu'au dernier jour qu'ils se montraient agglutinés en grumeaux.

La présence des spirochètes coïncide avec une fièvre continue atteignant jusqu'à 43°3.

Le métabolisme du glucose, étudié chaque jour, s'est maintenu tout le temps autour des limites normales. Légère augmentation à la fin de la maladie.

La maladie n'a pas été grave ; elle a pris une forme chronique d'emblée, avec tous les caractères énumérés au n° 3, mais beaucoup plus atténués. L'animal se remet assez vite et continue à être gardé longtemps au laboratoire.

Coq n° 5

Ce coq a résisté à l'infection ; très probablement, il avait été immunisé à la suite d'une infection spontanée antérieure. Néanmoins, son cas est intéressant à noter et nous en donnons ici le protocole de l'expérience :

Poids : 1470 grammes. Glycémie à jeun avant l'inoculation :

		Poids	Température Matin	Température Soir	Glucose sanguin
1er avril	1930.....	1470 gr.	41°3	42°	178,5 mgr. %
2 —	—	1470 —	41°6	42°	171 —
3 —	—	1460 —	41°7	42°2	182 —
4 —	—	1465 —	41°7	42°3	182 —
5 —	—	1460 —	41°7	41°8	178,5 —
6 —	—	1460 —	42°	42°2	178,5 —
7 —	—	1460 —	42°1	42°4	182 —

Limites de la glycémie normale à jeun : 171-182 mgr. %.

Le 7 avril, il reçoit dans les muscles pectoraux un demi-centimètre cube de sang riche en spirochètes. Les jours suivants, on continue à doser le sucre, en même temps que l'on fait la recherche des spirochètes ; ces derniers n'apparaissent dans le sang pas même après onze jours (alors que le témoin n° 6 s'infecte au quatrième jour après l'inoculation de la même source).

Voici les chiffres obtenus pendant cet intervalle :

	Poids	Examen du sang pour les spirochètes	Température Matin	Température Soir	Glucose sanguin
8 avril 1930..	1470 gr.	0	42°	42°6	185 mgr. %
9 — — ..	1457 —	0	42°2	42°6	182
10 — — ..	1450 —	0	42°2	42°6	164
11 — — ..	1450 —	0	42°4	42°7	174
12 — — ..	1460 —	0	42°3	42°5	157
13 — — ..	1440 —	0	42°1	42°3	164
14 — — ..	1450 —	0	42°	42°5	164
15 — — ..	1445 —	0	42°4	42°	157
16 — — ..	1440 —	0	42°	41°5	164
17 — — ..	1450 —	0	41°3	41°7	164
18 — — ..	1460 —	0	41°7	41°5	168

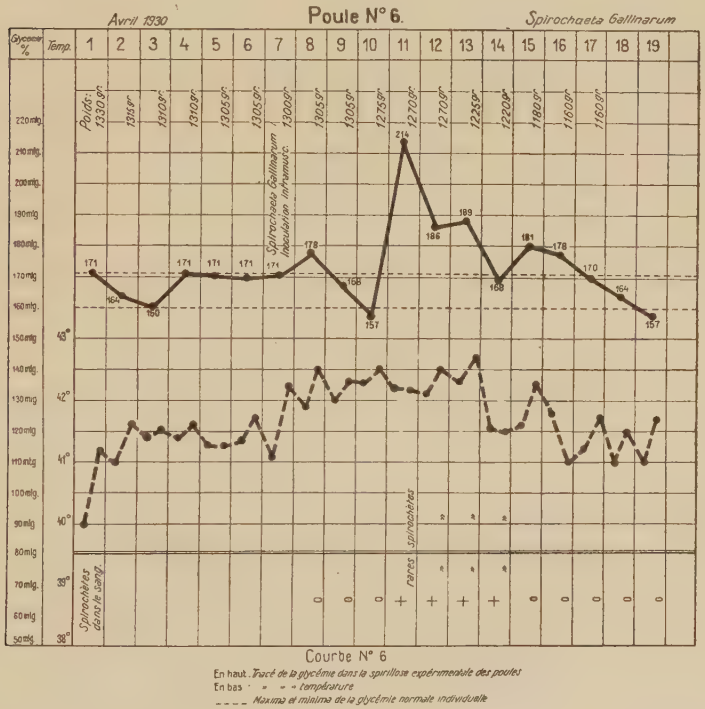
Malgré l'absence de l'infection, on constate pourtant un abaissement net du taux du glucose sanguin, qui commence après le quatrième jour de l'inoculation et s'y maintient pendant sept jours consécutifs. Cet abaissement ne peut pas être mis en relation avec une infection inapparente avec localisation des spirochètes dans les viscères, car, dans ce cas, on aurait dû constater nécessairement des modifications correspondantes dans l'état général de l'animal ; ce qui n'a pas été le cas. En effet, pendant toute la longue durée de l'expérience, le coq n'a présenté aucun signe clinique indiquant un trouble quelconque de l'état général. Pendant tout cet intervalle, l'appétit a été bien conservé, l'animal est resté continuellement très vif, sans trace d'anémie, et enfin et surtout son poids est resté invariable (1470 grammes au début de l'expérience, 1460 grammes à la fin, dix-huit jours après). Il est donc très probable que le coq n° 5 était totalement indemne de toute infection spirochétienne et que l'état hypoglycémique constaté chez lui était dû à d'autres causes physiopathologiques.

Poule n° 6 (tracé n° 6)

Poule adulte, poids 1330 grammes ; présente les valeurs suivantes de glycémie à jeun pendant sept jours consécutifs :

1er avril 1930	.....	171 mgr.	%
2 — —	.....	164	—
3 — —	.....	160	—
4 — —	.....	171	—
5 — —	.....	171	—
6 — —	.....	171	—
7 — —	.....	171	—
7 — —	.....	171	—

Limites de la glycémie normale : 160-171 mgr. %.



Le 7 avril, elle est inoculée avec un demi-centimètre cube de sang virulent, en même temps que le coq n° 5 (qui a résisté à l'infection).

Les spirochètes apparaissent dans le sang quatre jours après l'inoculation et s'y maintiennent pendant quatre jours. Ils sont toujours peu nombreux ; beaucoup de formes roulées en anneau.

Le taux du glucose dans le sang qui, pendant la période d'incubation, s'est maintenu entre les limites normales, augmente à 214 mgr. % lors de l'apparition des spirochètes. Les trois jours

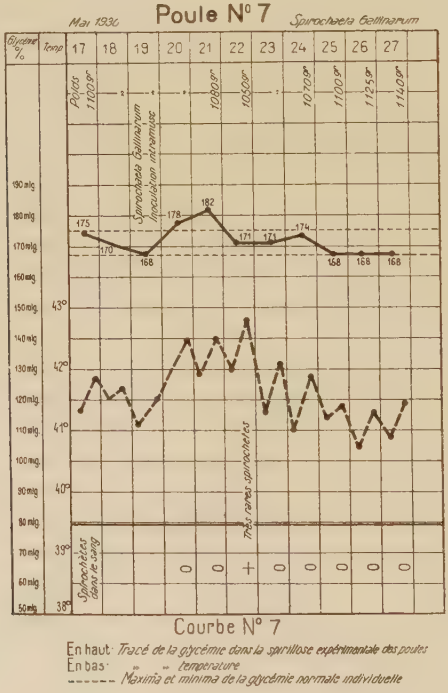
suivants, ces variations oscillent autour de la limite supérieure de la glycémie normale.

L'oiseau a présenté de la fièvre dès le premier jour de l'inoculation ; pendant toute la durée des spirochètes dans le sang, la température s'est maintenue augmentée : 42°-43°.

Après la disparition des spirochètes, on a continué à rechercher ceux-ci dans le sang, ainsi qu'à doser le glucose pendant cinq autres jours de suite.

Au point de vue clinique, les symptômes — anémie, ictère, diarrhée — ont été très légers.

L'animal n'a pas trop maigri (poids, 1160 grammes à la fin de l'expérience) ; rémission facile et rapide.



Courbe N° 7

En haut : *Tracé de la glycémie dans la spirillose expérimentale des poules*
En bas : " " *température*
------ *Maxima et minima de la glycémie normale individuelle*

Poule n° 7 (tracé n° 7)

Poule adulte, poids, 1100 grammes.

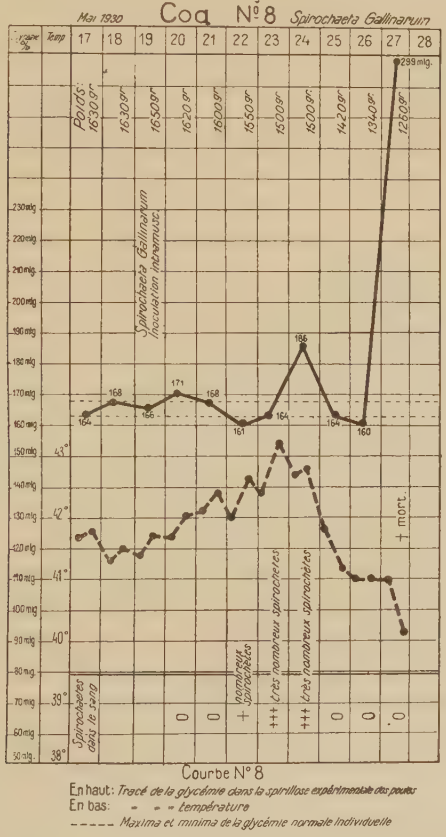
Limites de la glycémie normale à jeun : 168-175 mgr. %.

Inoculée le 19 mai 1930, avec un demi-centimètre cube de sang virulent, elle présente des spirochètes dans le sang le troisième

jour, mais ceux-ci ne s'y maintiennent que vingt-quatre heures.

Le glucose qui, pendant la période de l'incubation, avait dépassé de quelques milligrammes la limite supérieure de la glycémie normale, revient à la normale le jour même de l'apparition des spirochètes dans le sang et reste immobile encore pendant cinq jours de suite.

L'infection a été éminemment passagère.



Courbe N° 8

En haut: *Tracé de la glycémie dans la spirillose expérimentale du poulet*
En bas: - - - *température*
----- *Maxima et minima de la glycémie normale individuelle*

Coq n° 8 (tracé n° 8)

Nous donnons ici un cas où la spirillose expérimentale s'est compliquée d'une septicémie bactérienne, intercurrente, mortelle, et qui pourrait présenter un certain intérêt.

La glycémie normale à jeun de ce coq, pendant trois jours

consécutifs avant l'inoculation, a varié entre 164-168 mgr. %.

La maladie qu'il a faite a été très grave. Après une période d'incubation de trois jours, les spirochètes apparaissent dans le sang en nombre considérable dès le premier jour. Ils ont persisté dans le sang seulement pendant trois jours, leur nombre augmentant progressivement jusqu'à des quantités considérables. (C'est la plus forte infection que nous ayons observée pendant nos expériences).

Pendant tout cet intervalle, nous n'avons observé que des spirochètes absolument libres, pas de formes en anneau, aucune trace d'agglutination.

Après le troisième jour, les spirochètes ne sont plus rencontrés dans le sang. On y constate, au contraire, l'apparition d'un bacille mobile, qui persiste encore trois jours jusqu'à la mort de l'animal.

Pendant la présence des spirochètes dans le sang, la température varie entre 42°-43°; après la disparition de ces derniers et pendant la courte période de septicémie, la température s'est abaissée progressivement jusqu'à 40°2.

L'état général est très grave dès le début de l'infection spirochétienne. Après la disparition de ces derniers, l'état devient encore de plus en plus grave. Inappétence complète, diarrhée profuse avec une odeur caractéristique de pyocyanique très prononcée. Lors de la piqûre de la crête pour les dosages journaliers du sucre, la saignée ne s'arrête qu'avec très grande difficulté. Le sang est pâle et dilué. La crête et les barbettes sont fortement cyanosées. L'animal présente une dyspnée très accentuée, il reste tout le temps endormi, immobile, avec l'attitude caractéristique dans la spirochétose.

Il est très probable que l'oiseau a fait une septicémie au pyocyanique consécutive à la spirochétose.

La marche de la glycémie n'a pas du tout l'air d'avoir été influencée par la spirochétose; il n'y a qu'une légère poussée au-dessus de la normale le dernier jour de la présence des spirochètes dans le sang. Les jours suivants, pendant la septicémie pyocyanique, le sucre descend très peu au-dessous de la normale (de 4 milligrammes tout au plus). Le dernier jour, quelques heures avant la mort,, nous notons une brusque augmentation du sucre : 299 mgr. %.

RÉCAPITULATION

De huit gallinacés adultes qui ont été inoculés avec *Spirochaeta gallinarum*, sept individus ont fait la maladie. Ces sept cas pourraient être divisés, d'après leur forme clinique, en : *formes légères* (n^{os} 4, 6 et 7; *formes graves* (n^{os} 1, 2 et 3); *formes très graves* (n° 8). Six animaux guérissent de leur infection, le dernier (n° 8) seul succombe à la suite d'une septicémie intercurrente. Par conséquent, l'étude de la glycémie se limite seulement aux variations au cours de la maladie même, sans que nous sachions ce qu'elle serait devenue à l'approche de la mort par spirochétose.

Résumons encore une fois successivement les variations du sucre dans les sept cas positifs :

A. — Formes légères.

Dans le *cas n° 4*, la glycémie se maintient entre les limites normales (154-175 mgr. %) autant pendant la période d'incubation que pendant celle de la présence des spirochètes dans le sang. Il y a une légère augmentation (193, 182, 186 mgr %) les trois derniers jours de la période d'état, suivie d'un retour à la normale pour tout le reste de l'expérience. Nous n'avons donc jamais constaté un abaissement quelconque du sucre; au contraire, *il y a une tendance nette du sucre de s'élever au-dessus de la normale.*

Dans le *cas n° 6*, le taux du sucre se maintient, pendant la période d'incubation, près de la limite supérieure de la glycémie normale. Brusque augmentation (214 mgr. %) à l'apparition des spirochètes dans le sang. Cette vague hyperglycémique se maintient encore les jours suivants, pour ne revenir à la normale qu'après la disparition des spirochètes. Ici non plus, nous n'avons constaté d'hypoglycémie, au contraire *on assiste à une tendance nette à l'hyperglycémie au cours de l'infection.*

Dans le *cas n° 7*, où les spirochètes ne restent qu'un seul jour dans le sang, on ne constate qu'une légère augmentation du sucre pendant l'incubation.

B. — Formes graves.

Dans le *cas n° 1*, nous trouvons encore une augmentation du sucre au moment de l'apparition des spirochètes; cette augmen-

tation se maintient pendant toute la période d'état : 182, 171, 221, 193, 217 mgr. %.

Mêmes constatations pour le *cas n° 2*, où la glycémie, normale dans l'incubation, augmente brusquement et reste augmentée pendant la persistance des spirochètes dans le sang : 221, 196, 192, 207, 189 mgr. %

Le *cas n° 3* est le seul où le sucre descend et se maintient au-dessous de la normale pendant la période d'état, pour revenir ensuite après la disparition des spirochètes.

C. — Formes très graves.

Pour le coq n° 8, le taux glycémique reste compris entre les limites normales pendant la période d'incubation, ainsi que les deux premiers jours de la période d'état. Cet animal a fait une maladie très grave, compliquée, de plus, d'une septicémie consécutive à la spirochétose; aussi la vague hyperglycémique du troisième jour de la période d'état doit avoir une origine complexe. Il est très intéressant de retenir l'ascension considérable du sucre, quelques heures avant la mort, à la suite de la septicémie.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

I

Dans six cas sur sept de spirillose expérimentale des gallinacés, on ne constate pas d'hypoglycémie progressive évoluant parallèlement à l'infection spirochétienne.

L'hypothèse de Schern, infirmée pour ce qui concerne le métabolisme du sucre dans la trypanosomiase, ne se confirme pas non plus dans la spirochétose des poules.

Tout au contraire, on constate plutôt, dans presque la totalité des cas (six fois sur sept), une tendance à l'hyperglycémie, qui s'installe d'emblée au moment de l'apparition des spirochètes dans le sang pendant l'incubation.

II

Une exception à cette règle est représentée par le cas n° 3, où l'on assiste à une hypoglycémie nette coïncidant avec la présence

des spirochètes dans le sang et qui cadre très bien avec l'hypothèse de Schern.

Les conclusions définitives qui se dégagent de nos recherches peuvent être résumées comme il suit :

1° La spirochétose des gallinacés, dans la grande généralité des cas, ne peut être considérée comme une maladie de carence en sucre. Un seul cas où la spirochétose est accompagnée d'hypoglycémie apparaît plutôt comme une exception due à des facteurs physiopathologiques en dehors de la spirochétose.

2° Ce qu'on observe plus fréquemment, c'est plutôt une tendance vers l'hyperglycémie caractérisant la période d'état, s'installant dès le moment de l'apparition des spirochètes dans le sang, ou même parfois pendant la période d'incubation. Ce qui fait rentrer la spirochétose des gallinacées, au point de vue du métabolisme sanguin, dans les cas bien connus de toutes les autres maladies infectieuses fébriles.

BIBLIOGRAPHIE

1899. Cantacuzène (J.) : « Recherches sur la spirillose des oies. » (*Annales Inst. Pasteur*, t. 13, 1899, p. 529.)

1903. Marchoux et Salimbeni : « La spirillose des poules. » (*Annales Inst. Pasteur*, t. 17, 1903, p. 569.)

1910. Ponselle : « Contribution à la physiologie du *spirillum gallinarum* Assimilation du glucose. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 69, 1910, p. 307.)

1912. Marchoux et Couvy (L.) : « Argas et Spirochètes. » (*Bull. Soc. Path exot.*, t. 5, 1912, p. 63.)

1912. Marchoux et Couvy (L.) : « Argas et Spirochètes. » (*Bull. Soc. Path. exot.*, t. 5, 1912, p. 796.)

1913. Marchoux et Couvy (L.) : « Argas et Spirochètes. Premier mémoire. Les granules de Leishman. » (*Annales Inst. Pasteur*, t. 27,, 1913, p. 450.)

1913. Marchoux et Couvy (L.) : « Argas et Spirochètes. Deuxième mémoire. Le virus chez l'acarien. » (*Annales Inst. Pasteur*, t. 27, 1913, p. 620.)

1919. Todd : « The granules of Spirochaeta Duttoni. » (*Bull. Soc. Path. ex.*, t. XII, p. 595, 1919.)

1919. Marchoux : « Réponse à la communication de Todd. » (*Bull. Soc. Path. ex.*, t. XII, 1919, p. 600.)

1921. Knuth (P.) und Du Toit (P.-J.) : « Tropenkrankheiten der Haustiere in C. Mense. » (*Handbuch der Tropenkrankheiten*, Leipzig, 1921.)

1925. Schern (K.) : « Ueber Trypanosomen. I. Mitteilung. Das Phaenomen der Trypanosomenwiederbelebung und das Vorhandensein vergärbarer Substanzen in den Lebern und deren Extracten, welche wiederbelebend wirken. » (*Centralblatt. f. Bakteriologie. I. Originale*, Bd. 96, 1925, 356.)

1925. Schern : « Ueber Trypanosomen. II. Mitteilung : Sind in der Extracten, welche aus den Lebern der an einer akuten Trypanosomiasis verendeten Tiere hergestellt sind, noch durch Hefe vergärbare Substanzen vorhanden ? » (*Id., ibid.*, p. 360.)

1925. Schern (K.) : Ueber Trypanosomen. III. Mitteilung : In welcher Weise wirken die vermittels Hefe vergorene Extracte der Lebern normaler Tiere

in bezug auf das von mir beschriebene Trypanosomenphaenomen. » (*Id., ibid.*, p. 440.)

1925. SCHERN (K.) : « Ueber Thypanosomen. IV. Mitteilung : Der Nachweis der das Thypanosomenphaenomen der Wiederbelebung bedingenden Substanzen in Serum und Leber kronisch infiziert gewesener, Trypanosomekranken Tiere. » (*Id., ibid.*, p. 440.)

1925. SCHERN (K.) : « Ueber Trypanosomen. V. Mitteilung : Das Trypanosomenphaenomen und die Wirkung von Dextrose und Laevulösungen so wie von Leberbrei, Insulin, auf labile Trypanosomen. » (*Id., ibid.*, p. 444.)

1925. SCHERN (K.) : Ueber Trypanosomen. VI. Mitteilung : Eröterung über die Pathogenese der Trypanosomiasis auf Grund der Beobachtungen über das Zuckerphänomen der Trypanosomen. » (*Id., ibid.*, p. 451.)

1926. LABBÉ (M.) et GAVRILA (I.) : « Turburări glyco-regulatoare in decursul boalelor infectioase acute. » (*Clujul Medical*, vol. VII, nos 9-10, 1929, p. 373.)

1926. WENYON : *Protozoology*, vol. II.

1927. PICARD (Hugo) : « Ueber Insulinbehandlung septischer Prozesse an Nichtdiabetikern. » (*Deutsche Medizinische Wochenschrift*, n° 26, 1927, p. 1086.)

1927. SCHERN (K.) : « Trypanosomiasen und Spirochaeten als glycopenische nebst Bemerkung über eine ergänzende Zellkomplextherapie. » (*Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, Jahrgang 35, 1927, p. 283.)

1928. SCHERN (K.) und ROSSI, LEMA, LIBERO : « Ueber Trypanosomen. VII. Mitteilung : Blutzuckerwerte bei experimentel mit Mal de Caderas infizierten Tieren. » (*Centralblatt f. Bakt.*, Bd. 108, 1928, p. 394.)

1928. SCHERN (K.) : Ueber die Störung des Zuckerstoffwechsel bei Trypanosomiasen und Spirochätosen. » (*Bioch. Zeitschrift*, Bd. 193, 1928, p. 266.)

1929. SCHERN (K.) : « Zur Trypanosomenarbeit von Regendanz und Tropp. » (*Centralblatt f. Bakt*, Bd. 111, 1929, p. 139.)

1929. ZOTTA (G.) et RADACOVICI (E.) : « Contribution à l'étude du métabolisme du glucose sanguin dans la trypanosomiase expérimentale. » (*Archives roumaines de Pathologie expér. et de Microbiologie*, t. II, n° 1, 1929, p. 55.)

Le Gérant : J. CAROUJAT. NIORT. — IMP. TH. MARTIN.